FOR THE PEOPLE
FOR EDVCATION
FOR SCIENCE

LIBRARY
OF
THE AMERICAN MUSEUM
OF
NATURAL HISTORY

59.04 (43) 6e

ARCHIV

FÜR

ZELLFORSCHUNG

HERAUSGEGEBEN

VON

DR. RICHARD GOLDSCHMIDT

PROFESSOR AN DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

⁂

SIEBENTER BAND

MIT 52 TEXTFIGUREN UND 45 TAFELN

LEIPZIG

VERLAG VON WILHELM ENGELMANN

1912

14. 64.535 July 29 *

Inhalt des siebenten Bandes

Erstes Heft

Ausgegeben am 12. September 1911

Seite

Th. Bokorny, Verhalten von Infusorien und andern niederen Organismen sowie Pflanzen gegen stark verdünnte wässerige Auflösungen von Basen 1

Gaspare Alagna, Sulla presenza di formazioni mitocondriali negli elementi costitutivi delle Tonsille palatine normali, ipertrofiche e delle Vegetazioni adenoidi. (Con 6 figure nel testo) 27

H. E. Jordan, The Spermatogenesis of the Opossum (Didelphys virginiana) with special reference to the Accessory Chromosome and the Chondriosomes. (With 2 figures in the text and plates I—III) 41

W. Schleip, Das Verhalten des Chromatins bei Angiostomum (Rhabdonema) nigrovenosum. Ein Beitrag zur Kenntnis der Beziehungen zwischen Chromatin und Geschlechtsbestimmung. (Mit Tafel IV—VIII) . . . 87

M. Konopacki, Über den Einfluß hypertonischer Lösungen auf befruchtete Echinideneier (Strongylocentrotus lividus und Echinus microtuberculatus). (Mit Tafel IX—XI) 139

Zweites Heft

Ausgegeben am 7. November 1911

Andreas Berezowski, Studien über die Zellgröße. Zweite Mitteilung. Über den Einfluß der Kastration auf die Zellgröße 185

Katharine Foot and E. C. Strobell, Amitosis in the Ovary of Protenor belfragei and a Study of the Chromatin Nucleolus. (With plates XII—XX) 190

Jean Bonnet, Sur le groupement par paires des chromosomes dans les noyaux diploïdes. (Avec planches XXI—XXII et une figure dans le texte) 231

J. O. Wakelin Barratt and G. Arnold, Cell Changes in the Testis due to X Rays. (With plates XXIII—XXIV) 242

Cesare Artom, Analisi comparativa della sostanza cromatica nelle mitosi di maturazione e nelle prime mitosi di segmentazione dell' uovo dell' Artemia sessuata di Cagliari (univalens) e dell' uovo dell' Artemia partenogenetica di Capodistria (bivalens). (Con tavole XXV—XXVII) 277

Referate: Bialkowska, W. und L. Kulikowska, Über den Golgi-Kopschschen Apparat der Nervenzellen bei den Hirudineen und *Lumbricus*. *(Erhard)* 296

Diltevsen, Chr., Über Kernknospung im verhornten Plattenepithel beim Meerschweinchen. *(Erhard)* 296

Seite

Mollier, S., Die Blutbildung in der embryonalen Leber des Menschen und der Säugetiere. *(Erhard)* 296

Wassermann, Fr., Über den makro- und mikrochemischen Eisennachweis im Dotter des Hühnereies. *(Erhard)* 297

Maximow, A., Untersuchungen über Blut und Bindegewebe. III. Die embryonale Histogenese des Knochenmarks der Säugetiere. *(Erhard)* 297

Boveri, Th., Die Potenzen der *Ascaris*-Blastomeren bei abgeänderter Furchung. *(Koehler)* 297

Němec, B., Das Problem der Befruchtungsvorgänge und andere cytologische Fragen. *(E. Godlewski jun.)* 300

Drittes Heft

Ausgegeben am 28. Dezember 1911

Charles Lincoln Edwards, The Sex-Chromosomes in Ascaris felis. (With plate XXVIII) 309

Iw. Buresch, Untersuchungen über die Zwitterdrüse der Pulmonaten. I. Die Differenzierung der Keimzellen bei Helix arbustorum. (Mit 5 Figuren im Text und Tafel XXIX—XXX) 314

N. K. Koltzoff, Studien über die Gestalt der Zelle. III. Untersuchungen über die Kontraktilität des Vorticellinenstiels. (Mit 12 Figuren im Text) 344

M. v. Derschau, Über Kernbrücken und Kernsubstanz in pflanzlichen Zellen. (Mit Tafel XXXI—XXXIII) 424

Referate: Schaxel, Jul., Die Eibildung der Meduse *Pelagia noctiluca* Pér. et Less. *(P. Buchner)* 447

Schaxel, Julius, Das Zusammenwirken der Zellbestandteile bei der Eireifung, Furchung und ersten Organbildung der Echinodermen. *(P. Buchner)* 448

Retzius, G., Über den Bau des Eies der Echinodermen im unbefruchteten und im befruchteten Zustand. *(P. Buchner)* 449

Müller, Rob., Über die Eireifung bei den Alcyonaceen. *(P. Buchner)* 450

Senna, Ang., Ricerche sull' oogenesi di *Tomopteris elegans* Chun. *(P. Buchner)* 450

Morrill, Charles V., The Chromosomes in the Oögenesis, Fertilization and Cleavage of Coreid Hemiptera. *(P. Buchner)* 451

Elpatiewsky, W., Die Entwicklungsgeschichte der Genitalprodukte bei *Sagitta*. 1. Die Entwicklung der Eier. *(P. Buchner)* 451

Meves, Fr., Über die Beteiligung der Plastochondrien an der Befruchtung des Eies von *Ascaris megalocephala*. *(P. Buchner)* 452

Jörgensen, M., Zur Entwicklungsgeschichte des Eierstockeies von *Proteus anguineus* (Grottenolm) (Die Wachstumsperiode). *(P. Buchner)* 453

Athias, M., Les phénomènes de division d'ovule dans les follicules de de Graaf en voie d'atrésie chez le Lérot (*Eliomys quercinus* L.). *(P. Buchner)* 455

Sobotta, J. und Burckhard, G., Reifung und Befruchtung des Eies der weißen Ratte. *(P. Buchner)* 456

Montgomery, Thos. H. jr., Are Particular Chromosomes Sex Determinants? *(P. Buchner)* 457

Seite

Stevens, N. M., Further Studies on Heterochromosomes in Mosquitos. *(P. Buchner)* 458

Dehorne, Arm., Le mécanisme de la réduction numérique dans la spermatogénèse de *Ophryotrocha puerilis* Clprd.-Mecz. *(P. Buchner)*. . . 458

Blackmann, M. W., Spermatogenesis of the Myriopods. IV. An Analysis of the Chromosome Group of *Scolopendra heros*. *(P. Buchner)* 459

Sobotta, S., Über das Verhalten der Spermatozoen im Uterus der Säugetiere. Nach Befunden bei Nagetieren (Maus, Ratte u. a.) *(P. Buchner)* 460

Artom, Cesare, La Sistematica del genere *Artemia* in relazione col numero dei cromosomi delle cellule sessuali e in relazione col numero e colla grandezza delle cellule somatiche. *(P. Buchner)* 460

Schneider, K. C., Histologische Mitteilungen. III. Chromosomengenese. *(P. Buchner)* 460

Popoff, M., Ein Beitrag zur Chromidialfrage. Nach Untersuchungen an Musciden. *(P. Buchner)* 461

Erhard, H., Diplosomen und Mitosen im cilientragenden Ependym eines Haifischembryo. *(P. Buchner)* 461

Schultze, Osk., Über die Genese der Granula in den Drüsenzellen. *(P. Buchner)* 462

Firket, J., Recherches sur la genèse des fibrilles épidermiques chez le poulet. *P. Buchner)* 462

Viertes Heft

Ausgegeben am 10. April 1912

G. v. Kemnitz, Die Morphologie des Stoffwechsels bei Ascaris lumbricoides. Ein Beitrag zur physiologisch-chemischen Morphologie der Zelle. (Mit 9 Figuren im Text und Tafel XXXIV—XXXVIII) 463

Jean Bonnet, Recherches sur l'évolution des cellules-nourricières du pollen, chez les Angiospermes. (Avec 17 figures dans le texte et planches XXXIX—XLV) 604

Verhalten von Infusorien und andern niederen Organismen sowie Pflanzen gegen stark verdünnte wässerige Auflösungen von Basen.

Von

Dr. **Th. Bokorny.**

Die Reaktionen, um die es sich hier handelt, sind zum Teil intravitaler Natur; d. h. sie treten an dem lebenden Organismus ein, er reagiert und lebt weiter, die Veränderungen werden später wieder ausgeglichen, wenn das Reagens durch Auswaschen mit Wasser entfernt wird. Nur wenn die Einwirkung sehr lange gedauert hat und immer wieder neue Quantitäten des die Reaktion hervorrufenden Stoffes in die lebende Zelle eindringen, tritt schließlich der Tod ein.

Diese Reaktionen unterscheiden sich also von denen, welche sonst durch mikrochemische Reagentien hervorgerufen werden, ganz wesentlich. Die lebende Zelle reagiert, die Reaktion ist also von ungewöhnlichem Interesse und bisher wohl einzig dastehend, wenn man von der lediglich auf physikalischen Vorgängen beruhenden längst bekannten Plasmolyse absieht, die ja als physikalisches Phänomen an der lebenden Zelle gebührende Beachtung gefunden hat.

Man kann an dem lebenden Plasma mit gewissen Reagentien chemische Reaktionen anstellen, ohne daß dasselbe abstirbt.

Das hat Verfasser im Verein mit Prof. O. Loew zuerst an Pflanzenzellen ausprobiert. Die Erscheinungen, die z. B. mit verdünnten Coffein-Lösungen dort auftreten, sind frappierender Art. Man kann kaum etwas Merkwürdigeres sehen als die Reaktion einer lebenden Unterhautzelle von *Echeveria* gegen 0,1prozentige Coffein-Lösung. Sobald das Reagens auf eine noch lebende Unterhautzelle an den hergestellten Flächenschnitten auftrifft, beginnt darin eine merkwürdige Umwandlung des lebenden

wandständigen Protoplasmas (das ganze Innere der Zelle ist mit Zellsaft d. i. Vacuolenflüssigkeit angefüllt, der Plasmaschlauch ist an die Zellwand angepreßt). Dicht aneinander gerückt, so daß sie sich gegenseitig oft zu polygonaler Gestalt anstatt der ursprünglich runden (scheibenförmigen) pressen, treten »Proteosomen« auf; es sind Scheiben von starker Lichtbrechung und mit der Neigung, ineinander zu verschmelzen; letzter Umstand weist auf die flüssige Beschaffenheit hin. Oft erleidet die innere Plasmahaut (Vacuolenwand, auch Tonoplast genannt) eine verschiedengradige Kontraktion (anomale Plasmolyse), wobei dann die Proteosomen auf den Boden der Zelle herabgleiten. Mit letzteren können bei nicht genügender Vorsicht die Proteosomen des Zellsafts verwechselt werden, welche beim Eindringen des Koffeins in diesen ausgeschieden werden; sie sind stark gerbstoffhaltig, während erstere gerbstofffrei sind, wenigstens so lange der Tonoplast keinen Gerbstoff aus dem Zellsafte herausdringen läßt. Die Proteosomen des Zellsafts sind infolge ihres starken Gerbstoffgehalts mit gerbsaurem Koffein verwechselt worden, von dem sie aber aufs deutlichste durch ihr Gerinnungsvermögen, das Charakteristikum der genuinen Eiweißstoffe, unterschieden sind, ferner durch ihr Aussehen, das Zusammenschmelzen und ihr Verhalten gegen Lösungsmittel.

Am leichtesten erfolgt die Koagulation der Eiweißstoffe (nur genuine sind derselben fähig) durch Erwärmen ihrer Lösungen, die Temperatur ist bei den einzelnen Eiweißstoffen verschieden. Eine vollkommene Koagulierung des Eiweißes ist ferner nur bei schwach saurer Reaktion möglich. Ist die Reaktion stärker sauer oder alkalisch, so bleibt stets ein mehr oder weniger großer Teil des Eiweißes in Lösung und entgeht der Koagulation. Ferner ist es von Wichtigkeit zu wissen, daß durch Dialyse salzfrei gemachtes Eiweiß nicht mehr durch Hitze koaguliert; bei Zusatz von Salz zur erhitzten Lösung tritt dann Koagulation ein. Es ist eine bekannte, praktisch gut verwertbare Erscheinung, daß man bei der Eiweißkoagulation um so unabhängiger von der Reaktion ist, je salzreicher die Flüssigkeit ist, daß man sich also durch Zusatz von Kochsalz die quantitative Koagulation des Eiweißes sehr erleichtern kann. Wenn man zuviel Säure hinzusetzt, so koaguliert das Eiweiß nicht; es fällt aber aus, wenn man Kochsalz hinzufügt.

Bei der Koagulation durch Alkohol oder durch Tannin soll die Gegenwart von unorganischen Salzen ebenfalls nötig sein.

Diese Reaktionen sind von Wichtigkeit bei Prüfung der Ausscheidungen, die man mit basischen Stoffen oft an lebenden Zellen erhält, auf ihre Eiweißnatur.

Bei vielen Pflanzenzellen treten nach Einwirkung sehr verdünnter Basen Ausscheidungen im Plasma oder auch im Zellsafte, manchmal in beiden zugleich auf, welche von O. Loew und dem Verfasser Proteosomen genannt wurden. Sie bestehen im wesentlichen aus Eiweiß (aktivem Eiweiß); denn sie koagulieren beim Erhitzen auf 50—60° und durch Einwirkung von Alkohol. Salzzugabe ist bei dieser Probe nach obigen Ausführungen angezeigt.

Diese Ausscheidungen sind bei vielen Pflanzenzellen gefunden worden; bei tierischen Zellen bis jetzt nur selten, bei Leucocyten von F. Winkler (Wien, fol. haematol., Bd. IX).

Sie sind für das Verständnis der folgenden Versuche an niederen Tieren so wichtig, daß etwas auf sie eingegangen werden muß.

Zunächst von allen Basen lag dem Verfasser das Ammoniak und das Kali; denn diese Basen sind in dem von Loew und Verfasser empfohlenen Silberreagens (chem. Kraftqu. im leb. Protopl., München 1882) enthalten und rufen in den Zellen, bevor die Silberabscheidung beginnt, eine Körnchenausscheidung hervor. Später erst wurden andre noch geeignetere Basen zur Untersuchung genommen, z. B. Coffein.

Coffein ist als Reagens auf aktives Albumin von O. Loew und dem Verfasser zuerst angewandt worden. Die erste Notiz hierüber findet sich in unsrer Abhandlung »Die chem. Kraftquelle im lebenden Protoplasma« München 1882 S. 74: »0,25%ige Lösung von freiem Coffein bewirkt die Entstehung von großen Körnern und meist eine starke Kontraktion des Plasmaschlauchs. Mit Silberlösung reagierten nur jene in manchen (*Spirogyra*-) Zellen nur spärlich auftretenden Körner.«

Dann äußerte sich Verfasser in Pringsheims Jahrb. d. wiss. Bot., Bd. XIX, Hft. 2 (1888, »Einwirkung bas. Stoffe auf das lebende Protoplasma« S. 217) folgendermaßen: Besonders interessant ist die Einwirkung einer wässerigen Coffeinlösung auf lebende Spirogyrenzellen (*Spirogyra maxima* und *orthospira*). Wendet man konzentrierte etwa 5%ige[1]) Coffeinlösung an, so bilden sich im Zellsaft sogleich Hohlkugeln von beträchtlicher aber verschiedener Größe, sie sind vollkommen rund. Nach einiger Zeit treten im Saftraume der größeren Kugeln kleinere Kügelchen von verschiedener Größe auf. Durch Verdünnung der Coffeinlösung aufs Zehnfache entstehen viel kleinere Kügelchen. Die angegebenen Konzentrationen können natürlich nicht als absolut feststehende bezeichnet werden. Es ist ja sehr wohl möglich, daß man bei andern *Spirogyra*-Arten

[1]) Diese gibt es nur im warmen Zustande; in der Kälte löst sich höchstens 1,3 % Coffein in Wasser auf.

andre Konzentrationen anwenden muß, um große und kleine Kugeln zu erhalten. Die Bildung großer Kugeln mit kleinen im Innern tritt verhältnismäßig schwierig ein. Sind die Spirogyren in starkem Wachstum begriffen, so treten jene Ausscheidungen mit Coffeinlösung überhaupt nicht auf, weil der Zellsaft kein Eiweiß enthält. Im Frühjahr und Sommer wird man daher diese Reaktion oft vergebens zu bekommen suchen.

Da die 5%ige Coffeinlösung eine stark konzentrierte Lösung einer organischen Base ist und diese noch dazu warm angewendet werden muß, (weil sonst Coffein ausfällt), so dürfte ihre Wirkung kaum auf die lebende Zelle zu beziehen sein, wenn auch vielleicht das im Zellsaft gelöste aktive Albumin besser zu widerstehen vermag.

Weitere Mitteilungen über mikrochemische Coffeinreaktionen an lebenden Pflanzen machte Verfasser in seinem Aufsatze »über Aggregation« (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XX). Hier ist S. 443 angegeben, daß die Aggregation in *Drosera*-Tentakeln und in Spirogyren, welche auf einer Reaktion des aktiven Albumins beruht, außer verschiedenen andern basischen Stoffen auch dem Coffein ihre Entstehung verdanken können. »Die mit letzterem bei *Spirogyra* erfolgenden Ausscheidungen sind manchmal sehr mächtig und von Loew und mir früher beschrieben worden. Durch ihre oft bedeutende Größe und die Kugelgestalt sehen sie den von Vries beschriebenen Teilvacuolen ziemlich ähnlich und sind von Vries auch als Teilprodukte des Tonoplasten erklärt worden. Daß sie das nicht sind, geht daraus hervor, daß man an mit Coffein behandelten und die erwähnten Ausscheidungen zeigenden Spirogyren den Tonoplasten mit Salpeterlösung noch als Ganzes zur Kontraktion bringen kann.« »Bezüglich der Wirkung des Coffeins auf Spirogyren sei noch hervorgehoben, daß selbst 24stündiges Liegen derselben in kalt gesättigter (1,3%) wässeriger Coffeinlösung die Spirogyren nicht immer tötet. Bei einem von mir angestellten Versuche mit *Spirogyra maxima* besaß diese nachher noch starken Turgor und ergab mit 10%iger Salpeterlösung normale Plasmolyse. 24 Stunden in 1‰ Ammoniaklösung gelegene Spirogyren derselben Art waren nach dieser Zeit abgestorben, schlaff, verfärbt, unfähig sich wieder zu erholen.«

In den Epidermiszellen am Boden der Kanne von *Nepenthes phyllamphora* kann man durch 0.1%ige Coffeinlösung eine Ausscheidung von kleinen Kügelchen aus dem Zellsaft und dem Plasma veranlassen, welche ganz den Glanz und das Lichtbrechungsvermögen der bei *Spirogyra* und *Drosera* beobachteten besitzen und wie diese rasch zu größeren Kugeln zusammenfließen.

Primula sinensis ist ebenfalls ein geeignetes Objekt. In der Epidermis

der ganzen Pflanze trifft man Zellen an, welche die Aggregation in schönster Weise zeigen, und zwar von zweierlei Art (wie bei *Drosera*): 1. Kontraktion und Teilung der Vacuolenwand, 2. Ausscheidung von Eiweißkugeln aus dem Zellsaft (die doppelte Reaktion ist besonders deutlich in den tiefgefärbten Epidermiszellen). In den rotgefärbten Epidermiszellen von *Primula sinensis* zeigten sich mit kalt gesättigter Coffeinlösung sehr bald größere und kleinere Kügelchen. Mit 10%iger Salpeterlösung, welche nach dem Coffein einwirken gelassen wurde, erfolgte normale Plasmolyse, ein Zeichen, daß die Zellen nicht abgestorben waren. Besondere Erwähnung verdient die hier leicht zu konstatierende Tatsache, daß die Aggregation, insbesondere auch die Bildung von Eiweißkügelchen im Zellsaft, bei Einwirkung von 0,1% Coffein auftritt, bevor der Zellsaft durch die eindringende Base neutralisiert ist; denn intensiv rot gefärbte Zellen zeigen hier jene Eiweißkügelchen (durch Neutralisieren geht die Farbe in Blau über). Nach Pfeffer sollen nämlich die Kügelchen erst aus dem neutralisierten und alkalisch gemachten Zellsaft ausfallen, wie gerbsaures Eiweiß aus einer sauren Lösung durch Zusatz von Alkali ausfällt. Es liegt aber hier offenbar ein andrer Vorgang zugrunde; erst nach längerer Einwirkung der Coffeinlösung und reichlicherem Eindringen des Coffeins geht die Farbe von rot in blau über, nachdem die Aggregation längst vollendet ist.

An den Narbenepidermiszellen von *Crocus vernus* beobachtet man unter der Einwirkung von 0,1% Coffein eine regelrechte Plasmolyse, als ob 5—10%ige Salpeter- oder Zuckerlösung eingewirkt hätte. Der sich zurückziehende Plasmaschlauch bleibt lebendig und bildet eine neue Zellulosehülle um sich, welche eine beträchtliche Dicke binnen 24 Stunden erreichen kann. Es handelt sich hier offenbar um eine Reizwirkung des Coffeins; anders ist die Kontraktion nicht zu erklären.

An den rotgefärbten Epidermiszellen der Blmenblätter von *Tulipa suaveolens* bewirkt 0,1%ige Coffeinlösung binnen 4—5 Stunden Anfänge zur Kontraktion und Teilung der Vacuolenwand (anomale Plasmolyse), nach 2—3tägigem Liegen der Schnitte in der Lösung aber Bildung zahlreicher kleiner Teilvacuolen in Form roter Kügelchen.

Kugelige, bald zusammenschmelzende Ausscheidungen von Zellsafteiweiß kann man mit kalt gesättigter (1,3%) Coffeinlösung an den grünen Parenchymzellen des Blattes von *Pelargonium zonale* erhalten; mit 10%iger Salpeterlösung tritt an solchen schon in »Aggregation« befindlichen Zellen noch normale Plasmolyse ein, ein Zeichen, daß sie lebendig geblieben sind.

Behandelt man abgeschnittene Staubfäden von *Acacia* mit 0,1%iger

Coffeinlösung, so zeigt sich bald in der Nähe der Schnittfläche Aggregation, welche teils in der Ausscheidung von Eiweißkugeln aus der Vacuolenflüssigkeit teils in dem Auftreten von Körnern im Plasma sich kundgibt.

An dem medianen Längsschnitt durch das obere Ende des Blütenstieles bemerkt man nach Behandlung mit wässeriger Coffeinlösung bald überall zerstreute, am Blütenboden gehäufte, Zellen mit Aggregation. Auch die Oberhaut des Fruchtknotens zeigt zwischen den zahlreichen Raphidenzellen solche mit geballtem Inhalt; die Samenknospen sind von Aggregation nicht ausgenommen. Nimmt man von der Oberfläche eines etwas älteren Fruchtknotens einen Flächenschnitt und behandelt diesen mit kalt gesättigter wässeriger Coffeinlösung, so bemerkt man in den Epidermiszellen bald verschiedene Stufen der Aggregation; die einen zeigen nur Ausscheidung von Eiweißkügelchen aus dem Zellsaft, die andern zugleich Kontraktion des Tonoplasten (oder ganzen Plasmaschlauchs?), wieder andre außerdem noch Teilung des letzteren in mehrere größere und kleinere Schläuche, die zum Teil vollständige Kugelform haben; alle zeigen sich straff gespannt und mit gerundeten Umrissen. Vielfach kann man auch hier das allmähliche Zusammenfließen der Eiweißkügelchen zu größeren Kugeln beobachten.

In den Staubfadenzellen von *Mela'euca hypericifolia* Sm. bringt 0,1% Coffein kleinere und größere Kugeln hervor, welche allmählich den ganzen Farbstoff der Zellen in sich aufnehmen und dann lebhaft rot gefärbt erscheinen. Ähnlich ist es bei den Staubfäden von *Eugenia australis* DC., nur fehlt dort der rote Farbstoff im Zellsaft.

An den rotgefärbten Epidermiszellen der Blumenblätter von *Cyclamen europaeum* tritt mit Coffeinlösung 1 : 1000 sogleich Aggregation von zweierlei Art ein: Kontraktion der Vacuolenwand und Ausscheidung von Eiweißkugeln im Zellsaft.

Macht man einen medianen Längsschnitt durch die Blüte von *Cotyledon coccinea* Cav. und legt denselben in wässerige Coffeinlösung, so tritt alsbald die Aggregation in vielen der nicht angeschnittenen Zellen ein. Die Epidermis sämtlicher Blütenteile, des Blütenbodens, Perianthiums wie der Staubgefäße und Fruchtblätter, zeigt dieselbe in ausgezeichneter Weise; auch die oberflächliche Schicht der Samenknospen ist nicht davon ausgenommen. Aber auch im Innern der genannten Organe finden sich einzelne Zellen und Zellgruppen in nicht geringer Zahl, welche durch ihren geballten Inhalt schon bei schwacher Vergrößerung hervortreten. Die Haare, welche der äußeren Epidermis des Perianthiums aufsitzen und aus mehreren Zellen bestehen, lassen die Ausscheidung von

Eiweißkugeln und deren nachträgliches Verschmelzen zu größeren Kugeln in besonders bequemer Weise erkennen. An Querschnitten durch eines der kleineren grünen Blätter an der Infloreszenz konnte ich mit 0,1%iger Coffeinlösung die Aggregation ebenfalls deutlich sehen. Die Epidermiszellen mit den aufsitzenden Haaren, wie auch einzelne darunter liegende Parenchymzellen, zeigten nach kurzer Zeit Ballung des Inhalts. Die genauere mikroskopische Untersuchung einer Zelle des Blütenbodens ergab, daß die Ausscheidungen im Plasmaschlauch liegen. Der Plasmaschlauch ist mit runden scharf abgegrenzten Ausscheidungen angefüllt, welche Scheibengestalt haben. Wo die Gebilde besonders dicht stehen, drücken sie sich gegenseitig platt und nehmen einen mehr oder weniger regelmäßigen fünf- bis sechseckigen Umriß an. Nach kurzer Zeit verschmelzen sie dann, so daß der Plasmaschlauch teils mit großen Scheiben teils mit Gebilden aller möglichen Verschmelzungsstadien angefüllt ist. Eine Kontraktion der Vacuolenwand sah ich hier nicht. Bequemer kommt man zum Ziele, wenn man statt der Blüten die dicken fleischigen Blätter nimmt, von denen man mit Leichtigkeit Flächen- und Querschnitte anfertigen kann. Am zweckmäßigsten hebt man von denselben einen dünnen oberflächlichen Streifen ab, dreht denselben um, damit die zahlreichen, der Epidermis aufsitzenden Haare nach unten zu liegen kommen und die Beobachtung weniger erschweren, läßt nun 0,1%ige Coffeinlösung einwirken und beobachtet ohne Säumen die nun auftretenden Veränderungen. Zahlreiche Zellen unmittelbar unter der Epidermis zeigen plötzlich ein Zerfallen ihres plasmatischen Wandbelags in stärker und weniger stark lichtbrechende Partien; erstere treten bald scharf als runde Stellen hervor und stellen die erwähnten Eiweißscheibchen dar. Nach Behandlung mit 0,1%iger Coffeinlösung kann an den Ballung zeigenden Zellen noch Plasmolyse durch 5—10%ige Salpeterlösung hervorgerufen werden.

Ganz ähnliche Beobachtungen machte Verfasser an einer mexikanischen Crassulacee *Echeveria gibbiflora*. Hier haben die mit Coffein reagierenden Zellen dieselbe Lage und Verteilung wie bei *Cotyledon coce.*, ihr Zellsaft ist aber rot gefärbt. Die rote Farbe wird bei der Reaktion mit 0,1% Coffein zunächst nicht verändert.

Ob die Proteosomen aus Eiweiß bestehen, versuchten O. Loew und Verfasser zuerst an *Spirogyra* zu entscheiden. Sie wurden in 0,5%ige Coffeinlösung, die sich in einem Probierröhrchen befand, gelegt; dann wurde das betreffende Glasröhrchen mit der Lösung und der *Spirogyra* einige Minuten lang in 60° heißes Wasser gehängt. Die Proteosomen wurden nun durch Koagulation sehr trübe. Bei Behandlung mit absolutem Alkohol blieben die koagulierten Proteosomen in den *Spirogyra-*

Zellen intakt. Dieselben waren zum Teil noch trübe, indem sich zahlreiche Vacuolen gebildet hatten; zum andern Teil mit einigen größeren oder auch nur mit einer einzigen sehr großen Vacuole versehen (im optischen Durchschnitt dann ringförmig aussehend). Derselbe Versuch wurde auch mit den Proteosomen in den subepidermalen Zellen von *Echeveria gibbiflora* ausgeführt. Die von den Blättern abgehobenen Flächenschnitte wurden in 0,5%ige Coffeinlösung gelegt; letztere wurde dann allmählich auf 60° C erwärmt und 10 Minuten lang bei dieser Wärme erhalten. Die mikroskopische Besichtigung ergab, daß die Proteosomen ganz ähnliche Koagulationserscheinungen zeigten wie die der Spirogyren bei gleicher Behandlung. Bei nachheriger Behandlung mit absolutem Alkohol verschwanden die Proteosomen nicht, sondern zeigten nur noch stärkere Schrumpfung des koagulierten Eiweißes. Es herrscht also Übereinstimmung zwischen den Proteosomen der beiden Pflanzen. Sie koagulieren beim Erwärmen auf 60° C. Das Verhalten der schon koagulierten Proteosomen gegen absoluten Alkohol wurde hauptsächlich deswegen untersucht, weil behauptet worden ist, daß sie sich in Alkohol lösen; die »Proteosomen« seien demnach gerbsaures Coffein! Es ist ja möglich, daß frisch gebildete Proteosomen mit absolutem Alkohol zu verschwinden scheinen, indem durch den plötzlichen Wasserentzug aus den sehr wasserreichen Gebilden ein fast unsichtbarer feiner wasserfreier Niederschlag entsteht; dadurch kann eine Lösung vorgetäuscht werden. Daß die Proteosomen aber tatsächlich aus keinem alkohollöslichen Stoff bestehen, zeigt die obige Beobachtung völlig zweifellos. Bemerkenswert ist ferner, daß die Proteosomen allmählich auch bei gewöhnlicher Temperatur koagulieren. Wir ließen Spirogyren mit Proteosomen 4 Tage lang in gesättigter (1,3%) Coffeinlösung liegen, wobei die Zellen abstarben. Die mikroskopische Untersuchung ergab dann, daß die Proteosomen koaguliert waren; sie zeigten undurchsichtige, scheinbar körnige Beschaffenheit und hatten ihren Glanz verloren. Diese Proteosomen blieben, mit starkem Alkohol behandelt, völlig unverändert; der Chlorophyllgehalt der Spirogyren wurde als gelbgrüne Lösung ausgezogen. Die Proteosomen wurden ferner durch verdünnte Essigsäure zur Koagulation gebracht. Wir ließen Spirogyren in 0,5%iger Coffeinlösung $^1/_2$ Stunde lang liegen; dann brachten wir sie in eine Lösung von 8% Essigsäure + 4% Kochsalz + 0,5% Coffein. Die Lösung wirkte sehr rasch auf die Proteosomen koagulierend; sie wurden trüb, undurchsichtig und verloren ihren Glanz, es bildeten sich Vacuolen in denselben. Demnach läßt sich die Koagulation hier sehr gut zum Nachweis von genuinem Eiweiß verwenden.

Neuestens haben O. Loew und Verfasser (aktives Eiweiß und Tannin,

Flora 1911, Hft. 1) wieder gegen Wisselingh, ferner auch gegen Czapek, die Eiweißnatur der Proteosomen hervorgehoben. Diese Forscher traten unbegreiflicherweise von neuem mit der Behauptung hervor, daß die Proteosomen gerbsaures Coffein seien, trotzdem dieselbe von O. Loew und Verfasser, nachdem sie früher von andern Forschern aufgestellt worden war, längst widerlegt war. Es zeigt sich hier von neuem, wie leicht bei mikrochemischen Reaktionen Täuschungen entstehen können, wenn nicht gründliche chemische Kenntnisse zur Seite stehen. Folgende Tabelle wird jede Unklarheit beseitigen (die Tabelle ist aus ob. Abh. S. 114 entnommen):

Proteosomen	Gerbsaures Coffein
Werden bei 50—56° koaguliert.	Löst sich in heißem Wasser.
Binden Ammoniak und werden dabei fest.	Löst sich in Ammoniak.
Werden bei mehrtägigem Aufenthalt in verdünnter Coffeinlösung vacuolisiert und fest.	Behält seine Löslichkeit.
Werden unter Gelbfärbung durch Jod fest.	Bleibt bei Jodbehandlung löslich.
Verdünnte Säuren koagulieren die Proteosomen und nehmen die Wasserlöslichkeit weg.	Verdünnte Säuren verändern die Löslichkeit in heißem Wasser nicht.
Werden durch verdünnten Alkohol von 20 % unter Vacuolisierung unlöslich.	Wird durch verdünnten Alkohol gelöst.
Dämpfe von Anästhetica bedingen langsam eine Koagulation der Proteosomen, welche bald nach dem Tode der Zellen einsetzt.	Wird durch Anästhetica nicht im geringsten chemisch verändert.
Jod, Blausäure, Diamid, Hydroxylamin bringt die Proteosomen bald unter Vacuolisierung zum Erstarren (Koagulieren), und Formaldehyd führt die Proteosomen in ein in Kalilauge schwer lösliches Produkt über.	Keine chemische Veränderung unter den gleichen Umständen.
Proteosomen geben verschiedene Eiweißreaktionen.	Gerbsaures Coffein gibt diese Eiweißreaktionen nicht.

An tierischen Objekten, besonders an Infusorien, wurden vom Verfasser früher und auch jetzt wieder eine Reihe von Versuchen in der bezeichneten Richtung angestellt, welche sich in ihren Resultaten mit den oben beschriebenen Pflanzenversuchen vergleichen lassen.

Proteosomenbildung freilich wurde vom Verfasser bis jetzt an Tieren nicht beobachtet. Es scheinen hier größere Mengen von nicht organisiertem aktivem Albumin in den Zellen selten vorzukommen.

Auch eine Vacuolenwandkontraktion, d. i. anomale Plasmolyse, ferner die normale Plasmolyse, konnte ich bei Tieren niemals beobachten als Folgeerscheinung der Einwirkung sehr verdünnter Basen. Auch sonst ist dieselbe meines Wissens niemals beobachtet worden. Wenn man die gewöhnlichen plasmolytischen Mittel, wie 5—10%ige Salpeterlösung oder 10—20%ige Zuckerlösung auf Infusorien einwirken läßt, so sterben dieselben nach einiger Zeit ab, bei Salpeter viel früher als bei Zuckerlösung. Plasmolyse ist vorher (vor Eintritt des Todes) nicht zu bemerken. An den abgestorbenen Infusorien sieht man eine Granulation oder öfters auch eine netzförmige Beschaffenheit des Zelleibs, die manchmal mit Deformation des Infusorienkörpers verbunden ist. Offenbar ist durch Wasserausscheidung die Bildung von Eiweißkörnchen oder von netzförmigen dichteren Eiweißmassen vor sich gegangen.

Warum treten hier jene eigentümlichen Aggregationserscheinungen nicht auf, die bei Pflanzenzellen so häufig beobachtet werden? Der Plasmaleib des Infusoriums ist offenbar weniger geschützt und weniger widerstandsfähig gegen plötzlichen Wasserentzug; darum treten die Erscheinungen der Plasmolyse nicht ein, die Zelle stirbt vorher ab, wenn Zuckerlösung von 10% oder Salpeterlösung von 10% zur Einwirkung kommt. Bei 0,1—0,01% Coffein, ferner bei 1% Antipyrin freilich stirbt die Zelle nicht gleich ab und könnte ganz wohl die Plasmolyse (normale oder anomale) eintreten; es scheint, daß vielleicht doch eine Lähmung der hierfür maßgebenden Teile (Außenschicht des Plasmas und Vacuolenwand) eintritt.

Die einzige Wasserentzugswirkung, welche hier an lebenden Zellen gesehen werden kann, ist die Einschrumpfung[1]) der Plasmateile und gleichzeitige Vergrößerung der Vacuolen, eventuell die Bildung zahlreicher Vacuolen, was den betreffenden Tierchen das Aussehen der Schaumigkeit verleiht.

Coffein und Amöben. Läßt man 0,1%ige wässerige Coffeinlösung auf Amöben einwirken, so stellt sich bald heraus, daß dieselbe gut vertragen wird; die Ortsbewegung und strömende Bewegung im Innern dauert fort, auch bei tagelanger Einwirkung der Lösung; gleichzeitig

[1]) Das Dichterwerden unter Zunahme des Lichtbrechungsvermögens; es findet eine Wasserausscheidung aus dem Plasma und damit Anreicherung an organischer (Eiweiß-) Substanz statt.

anwesende sonstige niedere Tiere, wie Infusorien, ferner niedere Pflanzen, Schwärmsporen von Algen usw., nehmen ebenfalls keinen merklichen Schaden.

Sehr bald zeigt sich aber an der lebenden Amöbe eine auffallende Veränderung, indem dieselbe sich nun schärfer von dem umgebenden Wasser abhebt; zahlreiche große Vacuolen treten im Innern auf, welche durch stark lichtbrechendes Plasma getrennt sind; die Fortsätze werden länger und dünner, die Bewegung ist langsamer und macht den Eindruck, als ob die sich bewegende Masse nicht mehr jenen Grad von Dünnflüssigkeit hätte wie zuvor. All das deutet darauf hin, daß das Plasma in einen dichteren Zustand übergegangen ist, und gerade darin liegt die Übereinstimmung mit den früher an Pflanzenzellen gemachten Beobachtungen. Die Vacuolen sind offenbar durch Wasserausscheidung aus dem Plasma zustande gekommen, das stärkere Lichtbrechungsvermögen ist Folge des größeren Substanzreichtums im Plasma; der Grund der Dichtigkeitszunahme ist wahrscheinlich in einer Polymerisation des aktiven Albumins zu suchen.

Wenn man die Coffeinlösung bald durch reines Wasser ersetzt, kann damit der frühere Zustand der Amöbe wieder hergestellt werden.

Ammoniak und Amöben. Wässerige Ammoniaklösung von 1% tötet Amöben fast augenblicklich; sie stellen sofort ihre Bewegungen ein und verquellen zu einer durchsichtigen vom Wasser sich wenig abhebenden Masse; indem schließlich die äußere Hautschicht zerstört wird, gelangen die dem Amöbenplasma eingebetteten stark lichtbrechenden Körnchen in Freiheit. Ammoniak von 0,2% wirkt ebenfalls tödlich.

Verdünnt man letztere Lösung auf das Fünffache, so daß 0,04%ige Ammoniaklösung entsteht, so wirkt diese nicht mehr tödlich. Die kriechende Bewegung der Amöben wie auch die Strömung im Innern dauert fort. Nach mehreren Stunden nimmt dann das Plasma eine schaumige Beschaffenheit an, indem zahlreiche Vacuolen, große und kleine, im Innern auftreten. Auch hier scheint also durch den basischen Stoff eine Wasserausscheidung aus dem Plasma zu erfolgen, ohne daß dadurch die Lebensfähigkeit verloren geht. Solche schaumig gewordene Amöben kriechen noch lebhaft umher!

Bisher ist das meines Wissens nirgends in der naturwissenschaftlichen Literatur beschrieben worden. Und doch ist es so leicht zu beobachten. Man braucht nur die richtige Verdünnung der Basen auszuprobieren und nicht zu verzagen, wenn sich die Wirkung nicht gleich einstellt. Meist werden ja die angegebenen Konzentrationen, 0,1% bei Coffein und 0,04% bei Ammoniak die beschriebene Wirkung hervorrufen. Doch ist es immer-

hin möglich, daß bei manchen Amöben noch größere Verdünnungen bessere Dienste tun, bei andern wiederum stärkere Lösungen anwendbar sind. Vielleicht gibt es auch Amöben, die etwas anders reagieren. Jedenfalls ist die Sache hochinteressant! Das Schaumigwerden der lebenden Amöbe ist zweifellos ein Wasserausscheidungsvorgang; das Plasmaeiweiß wird dabei wasserärmer und reicher an organischer Substanz, der Quellungszustand desselben wird etwas geändert, ohne daß die Zelle Schaden leidet.

Daß ähnliche Dinge auch bei Schleimpilzen, diesen in ihrem vegetativen Zustand den Amöben vergleichbaren niederen Pilzen mit 0,1% Coffein auftreten, geht aus folgender Beobachtung, die namentlich den Botanikern und Pilzforschern, sowie auch jedem Zellphysiologen nahe gehen dürfte, hervor:

Schleimpilze und Coffein: Ein (Capillitium bildender) Myxomycet wurde mit 0,1%iger Coffeinlösung behandelt. Sein Plasmodium zerfiel unter starker Protoplasmaströmung in mehrere verschieden große runde Portionen, welche, wie aus der Spannung der Hautschicht und der strömenden Bewegung im Innern hervorging, noch längere Zeit fortlebten; in vielen dieser Kugeln ging allmählich eine Sonderung in stark lichtbrechendes, offenbar ziemlich dichtes, zu einem schwammartigen Gerüst verbundenes Plasma und Vacuolenflüssigkeit vor sich. Durch Salpeterlösung von 10% wurden ähnliche Vorgänge angeregt, schienen aber bald stille zu stehen, indem das Plasma abstarb. Ließ man das Plasmodium nur kurze Zeit in 0,1%iger Coffeinlösung liegen, bis die Ballung eingetreten war, und brachte man es dann in Wasser zurück, so konnte man nach 24 Stunden bereits wieder Bildung langer Plasmodienstränge bemerken. Sämtliche Versuche wurden mit offenem Objektträger ohne Deckgläschen gemacht (natürlich unter Vermeidung des Eintrocknens).

Leucocyten und Coffein: F. Winkler, dessen Arbeit »Darstellung von Granulationen in Leucocyten« (Fol. haematologica vol. IX. 1910) mir erst nachträglich zukam, schreibt: Unter der Einwirkung einer $^1/_2$%igen wässerigen Coffeinlösung treten in Leucocyten (von gonorrhöischem Eiter) sehr feine Körnchen auf, welche den ganzen Plasmaleib erfüllen; mit 0,02% Ammoncarbonat ebenfalls. Getötete Leucocyten lassen die Ausscheidungen nicht erkennen. Leider konnte ich diesen interessanten Fall noch nicht vergleichen.

Alkaloide und Mikroorganismen: Da hier hauptsächlich nur die Giftwirkung in Betracht kommt, seien nur wenige Beobachtungen angeführt:

Digitalin, das bekannte Herzgift, dessen Wirkung auf chlorophyllhaltige Pflanzen bis jetzt noch nicht untersucht worden ist, scheint für Algen ein ziemlich starkes Gift zu sein; denn in einer 0,02%igen Lösung starben mir binnen 24 Stunden alle Conferven, Spirogyren, Diatomeen ab, von *Vaucheria* blieben nur sehr wenige Schläuche am Leben. Pilze werden von verdünnten Lösungen nicht geschädigt; denn Kiliani beobachtete in 0,1%igen Lösungen reichliche Schimmelbildung, das Digitalin ist hier also ein guter Nährstoff (O. Loew, Giftwirkungen, S. 127).

Salzsaures Muscarin[1]) (von Grübler) läßt Paramäcien und kleinere Infusorien, ferner Würmer, Wasserinsekten bei 24stündiger Einwirkung einer 0,02%igen Lösung völlig intakt, ebenso die Algen *Cladophora* und *Conferva*. Es ist also eine weniger schädliche Substanz für niedere Pflanzen und Tiere.

Essigsaures Chinin in der Verdünnung 0,02% tötet binnen 6 Stunden Algen (*Cladophora*, *Spirogyra*) und Infusorien ab. 0,01%ige Lösung richtete binnen 1 Stunde keinen erheblichen Schaden an. In 0,01%iger Lösung des Chininsalzes stellten Paramäcien und kleinere Infusorien, ferner Diatomeen ihre Bewegungen fast augenblicklich ein. Bei den Algen *Cladophora* und *Vaucheria* bedurfte es $^1/_4$—$^1/_2$stündiger Einwirkung der 0,1%igen Lösung, bis das Protoplasma unter Kontraktion abstarb.

Strychninnitrat von 1 : 5000 tötet Cladophoren und Paramäcien binnen 6 Stunden. Durch 0,1%ige Lösung des Salzes werden Infusorien und Diatomeen fast momentan zur Einstellung ihrer Bewegungen veranlaßt. Binnen 6 Stunden brachte 0,1%ige Lösung alle eingesetzten Algen, Cladophoren, Vaucherien, Diatomeen, Spirogyren, sowie die Tiere zum Absterben. Sogar 0,01%ige Lösung tötete binnen 48 Stunden die meisten Algen und kleinen Tiere. *Cladophora* und *Vaucheria* waren ganz abgestorben, desgleichen die Infusorien; nur einige Diatomeen sowie Insektenlarven bewegten sich noch.

Morphiumacetat zeigte sich erheblich weniger schädlich; denn in einer Lösung, welche 0,1% des Stoffes enthielt, blieben Paramäcien 6 Stunden lang am Leben, desgleichen Insektenlarven; die Alge *Cladophora* freilich wurde dadurch Faden für Faden getötet, von *Vaucheria* blieben nur wenige Schläuche am Leben. Die Paramäcien zeigten sogar eine ungewöhnlich lebhafte Bewegung, als wenn das Morphiumsalz einen Bewegungsreiz auf dieselben ausüben würde. Durch 0,1%ige Lösung wurde binnen 48 Stunden die Bewegungsfähigkeit von Paramäcien und kleineren Infusorien in keiner Weise beeinflußt; die Diatomeen schienen

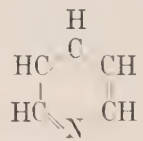
[1]) Muscarin hat die Strukturformel: $(CH_3)_3N\langle^{CH_2—CH(OH)_2}_{CH}$.

ihre Bewegung verloren zu haben: Cladophoren und Vaucherien waren zum Teil abgestorben.

Durch salzsaures Nicotin von 0.1% (die Lösung reagierte schwach sauer) wurden kleine Wassertiere, Insektenlarven, Spulwürmer, eine kleine Infusorienart binnen 6 Stunden nicht abgetötet; sie bewegten sich noch lebhaft hin und her. Die *Cladophora*-Fäden waren unter Verfärbung abgestorben, von *Vaucheria* waren nur wenige Schläuche noch lebendig. Bei 24stündigem Aufenthalt in 0,01%iger Lösung behielten Infusorien und Diatomeen ihre Bewegung unverändert bei; Cladophoren und Vaucherien blieben zum großen Teil lebendig.

Von den vier eben genannten Alkaloiden sind offenbar das Strychnin und Chinin weit giftiger für Algen und niedere Wassertiere als Morphium und Nicotin. Ähnlich scheint es bei höheren Pflanzen und Tieren zu sein. Denn Chinin und Strychnin schädigen nach Maracci[1]) die Keimkraft der Erbse, nicht aber wirkt das Morphin schädlich. Die Wurzeln erwachsener Pflanzen werden durch Morphin nicht beeinflußt, wohl aber durch Chinin und Strychnin. Nach Detmer beeinträchtigt eine 0,2%ige Lösung von Atropin das Wachstum von Erbsenkeimlingen keineswegs erheblich, während eine ebenso starke Lösung von salzsaurem Chinin tödlich wirkt. Strychnin wirkt in der Konzentration 1 : 473 auf das Protoplasma der *Drosera*-Tentakeln tödlich, während Morphin nicht schädlich ist (Darwin). Strychnin von 0,05% verhindert die Entwicklung des Froscheies, Morphin nicht. Kaulquappen sterben rascher durch Chinin und Strychnin als durch Morphin und Atropin.

Merkwürdig ist der Unterschied in der Wirkung von Pyridin mit der Formel

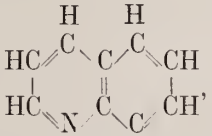


und dem um 6 Wasserstoffatome reicheren Piperidin.

Letzteres wirkt als heftiges Gift auf viele niedere Organismen, während ersteres bei weit höheren Konzentrationsgraden noch ganz wirkungslos ist. Während 0,5% freies Pyridin in einer Nährlösung mit weinsaurem Ammon weder Schimmel- noch Spaltpilzentwicklung hindert, wirkt schon 0,2% Piperidin antiseptisch. Während Infusorien wochenlang in Lösungen von 0,2% freiem Pyridin bei geeigneter Algennahrung weiterleben, sterben sie momentan in einer ebenso starken Lösung von freiem Piperidin. Schon vor längerer Zeit haben Kendrik und Dewar darauf hingewiesen,

daß die wasserstoffreicheren Alkaloide wirksamer sind als die Pyridinbasen von gleichem Kohlenstoffgehalt, z. B. Coniin und Nicotin einerseits und Collidin und Dipyridin andrerseits. Ganz analoge Resultate haben L. Hoffmann und W. Koenigs publiziert.

Chinolin, von der Formel



ist nach O. Loew (Über Giftwirkung, Pflügers Arch. 1887, S. 442) ein schwächeres Gift für Algen als Chinin.

Coffein und *Paramaecium*. Läßt man 0,1%ige Coffeinlösung auf das Infusorium *Paramaecium* einwirken, so dauert zunächst die Wimperbewegung und freie Ortsbewegung unverändert fort, während die kontraktilen Vacuolen sich vergrößern und allmählich ihre Kontraktionsfähigkeit verlieren. Aus der Vacuolenvergrößerung scheint hervorzugehen, daß das lebende Plasma Wasser in den Vacuolenraum hinein ausscheidet; indem das Plasma hiermit dichter, d. h. wasserärmer wird, nimmt es ein stärkeres Lichtbrechungsvermögen an. Zugleich bewirkt die 0,1%ige Coffeinlösung offenbar eine Lähmung der Vacuolenwand, so daß sie sich nicht mehr kontrahieren kann. Im übrigen scheint das Infusorium nicht beeinträchtigt zu werden. Es setzt seine Bewegungen tagelang in der Coffeinlösung unbehindert fort. In manchen findet sich schließlich statt der zwei Vacuolen eine einzige sehr große vor; zugleich nimmt der Infusorienleib dabei oft runde (kugelige) Gestalt an; die charakteristische Form des *Paramaecium* ist damit aufgegeben. Das Plasma bildet dann eine ziemlich dünne Hülle um die große Vacuole, so daß die noch immer lebhaft bewegliche Zelle ein ganz verändertes Aussehen, fast das einer Pflanzenzelle (peripherischer Plasmasack eine einzige große Vacuole umschließend) erhält.

Ammoniak und *Paramaecium*: Bei Einwirkung einer 0,2%igen Ammoniaklösung stellt *Paramaecium* sogleich seine Bewegungen ein und erleidet auch sichtbare Veränderungen im Plasma, welche den Tod bekunden. 0,1% Ammoniak wirkt ähnlich. Auch wenn die Verdünnung 0,02% angewandt wird, tritt bald eine Verlangsamung der Bewegung und schließlich Stillstand ein; zugleich zeigen sich Formveränderungen, das Infusorium wird rundlich und zeigt, im optischen Durchschnitt gesehen, einen breiten hyalinen Saum, aus dem mehrere breite gerundete Auswüchse hervortreten; bisweilen lösen sie sich ab und nehmen Kugelgestalt

an. Schließlich öffnet sich der Infusorienleib an einer Stelle und nun quillt der körnige Inhalt daraus hervor. Sogar durch wässerige Ammoniaklösung von 0,01% treten die eben genannten Wirkungen noch teilweise ein. Viele Individuen aber leben fort, bewegen sich munter und zeigen dabei Vacuolenvergrößerung und Auftreten neuer Vacuolen im Innern, ferner eine etwas größere Starrheit des Infusorienleibs, Erscheinungen, welche wiederum auf Wasserausscheidung aus dem lebenden Plasma schließen lassen. Nach $^1/_2$stündiger Einwirkung dieser hochverdünnten Ammoniaklösung kann man oft bis zu 20 große Vacuolen im Innern der noch lebhaft beweglichen Infusorien wahrnehmen.

Da offenbar große individuelle Verschiedenheiten hinsichtlich der Resistenz gegen chemische Einflüsse vorhanden sind, so ist es geboten, die richtige Konzentration der Reagentien in jedem Falle besonders auszuprobieren.

Kohlensaures Ammoniak wirkt ähnlich wie Ammoniak, aber schwächer; die Verdünnung 1 : 3000 dürfte hier genügen, um ähnliche Erscheinungen zu erzielen wie mit Ammoniak von 1 : 10 000.

Kali und *Paramaecium*: Durch Kali wird *Paramaecium* sehr verschieden beeinflußt je nach der individuellen Resistenz. Bei den einen wirkt 0,1%ige Lösung tödlich, das ganze Infusorium verquillt zu einer fast unsichtbaren Masse; bei andern wirkt erst erheblich stärkere Konzentration gleich tödlich. Geeignete Konzentrationen zur Hervorrufung ähnlicher Erscheinungen wie bei 0,1% Coffein (Vacuolenvergrößerung usw.) wurden hier bis jetzt nicht gefunden.

Ganz andres Aussehen gewährt eine Spirogyrenzelle nach Behandlung mit Ammoniak. Ich ließ Ammoniak von 1 : 20 000 auf diese Algen einwirken und betrachtete dieselben nach 20 Minuten langem Verweilen unter dem Mikroskop. Es zeigten sich bei sonst völlig intaktem Aussehen der Zellen viele Körnchen im Plasma, ziemlich gleichmäßig über den ganzen Plasmaschlauch verbreitet. Das Leben der Zellen war dadurch so wenig gestört, daß dieselben ruhig weiter wuchsen, als die Algen in reines Wasser zurückversetzt wurden. Da Ammoniak von solcher Verdünnung leicht im Kulturwasser spontan (durch Pilztätigkeit) auftreten kann, so bemerkt man ähnliche Körnchenbildung häufig auch an Zellen, die man gar nicht mit einem Ammoniakzusatz bedachte; besonders solche Spirogyren, die lange Zeit in demselben Wasser gestanden haben, bei reichlicher Entwicklung von Spaltpilzen und Infusorien, gewähren dieses Ansehen. Um die Granulation sicher als dem Protoplasma, nicht etwa der Zellhaut angehörend, zu erklären, plasmolysiert man zweckmäßig die Zellen vor Anwendung der Ammoniaklösung. In dem kontra-

hierten abgerundeten und noch lebendigen Protoplasten erscheinen dann mit 0,1%igem Ammoniak augenblicklich jene nämlichen Körnchen, wie sie auch am nicht kontrahierten Protoplasten erhalten wurden. Bringt man das Protoplasma mit Zuckerlösung zur Kontraktion und tötet es dann (etwa mit verdünnter Schwefelsäure), so ruft Ammoniak keine Körnchenbildung mehr hervor! Die Reaktion ist also eine intravitale.

Kali wirkt bei Spirogyren dem Ammoniak ähnlich. Man kann hier sogar in der Verdünnung noch weiter gehen als bis 1 : 20 000.

Natron bewirkt die Körnchenbildung weniger gut, Kalk gar nicht.

Calciumhydroxyd bewirkt ebenfalls keine der Ammoniak- oder Coffeinwirkung ähnlichen Erscheinungen. Es wirkt entweder tödlich, bzw. bewegungshindernd (0,1%) oder gar nicht sichtbar ein. In einer 0,1%igen Lösung dieser Base stellten Infusorien augenblicklich ihre Bewegung ein; Distomen kugelten sich zusammen und waren binnen wenigen Minuten bewegungslos. Die vorhandenen Fadenalgen zeigten binnen wenigen Minuten ein teilweises Absterben. *Anguillula*-Arten sah ich nach 5 Minuten noch in Bewegung. Nach 24 Stunden waren alle Mikroorganismen getötet, mit Ausnahme der am Rande des Deckglases gelegenen. Hier waren noch lebhaft bewegliche Infusorien vorhanden, zugleich aber ein Niederschlag von kohlensaurem Kalk; offenbar war hier der Kalk durch Kohlensäurebindung unwirksam geworden.

Spirogyren sterben schon ab, wenn man sie in Kalkwasser von 0,015% bringt.

Kalkwasser von 0,01% bringt nach meinen Beobachtungen an Schlammorganismen keine bemerkbaren Veränderungen hervor. Auch nach Ablauf von 24 Stunden zeigt sich keine Abnahme in der Bewegung der Infusorien und andrer beweglicher Mikroorganismen. An den vorhandenen Fadenalgen bemerkte ich nur ein teilweises Absterben. Nach Liborius genügt ein Gehalt 0,0074% Ätzkalk in verdünnter Bouillon, um Typhusbazillen zu töten; bei Cholerabazillen genügt 0,0246% CaO.

Aggregationserscheinungen konnte ich bei Calciumhydroxydeinwirkung bis jetzt niemals wahrnehmen.

Dinatriumphosphat. Es ist ein kräftig alkalisch reagierendes Alkalisalz. In einer 1%igen Lösung dieses Salzes beobachtete ich zunächst keinerlei Veränderung in der Bewegung der zahlreichen vorhandenen Aufgußtierchen. Nach einer Viertelstunde derselbe Befund. Sogar nach 24 Stunden waren noch lebende normal bewegliche Infusorien sichtbar; einige Individuen (derselben Art) freilich waren schon abgestorben und manche sogar zerflossen, was jedenfalls auf die durch Verdunstung eingetretene Konzentrierung der Lösung zurückzuführen ist; man sah

am Rande Verdunstungsrückstand. die feuchte Kammer, in der das Präparat lag, hatte nicht gut geschlossen.

In 10%iger Dinatriumphosphatlösung sterben die Infusorien sogleich ab unter Zusammenschrumpfen ihres Leibes durch Wasserentzug. Das hat ja mit der alkalischen Reaktion nichts zu tun, sondern nur mit der hohen Konzentration der Lösung. Kochsalzlösung von 10% hat dieselbe Wirkung; die Schrumpfung der Infusorienleiber schien mir aber hier noch stärker zu sein.

Auch 5%ige Lösung des Dinatriumphosphats bringt die Infusorien langsam zum Schrumpfen: binnen 5 Minuten hört die Bewegung auf. Die Veränderung ist aber keine tödliche. Denn bei Zugabe von Wasser quellen die Tierchen wiederum auf und fangen dann an lebhaft hin und her zu schwimmen.

2.5%ige Auflösung des Dinatriumphosphats bringt die Infusorien zunächst nicht dazu, ihre Bewegungen einzustellen; dieselben werden sehr beschleunigt; die Tiere scheinen einen Bewegungsanreiz von dieser Lösung zu erhalten. Erst nach einer halben Stunde ließen viele Tiere Stillstand in der Bewegung oder langsam drehend zuckende Bewegung erkennen.

Bei Anwendung von 2.5%igem Dikaliumphosphat zeigen sich in wenigen Minuten Schrumpfungserscheinungen an vielen Infusorien, dann Stillstand der Bewegung. Daß dieses Salz schädlicher wirkt als Dinatriumphosphat ist vielleicht auf seine stärkere osmotische Wirksamkeit zurückzuführen; denn eine Folge der Wasserentziehung ist wohl alles, was bis jetzt über die Wirksamkeit dieser alkalisch reagierenden Salze gesagt wurde. Die alkalische Reaktion scheint hier weniger in Betracht zu kommen, da ja sonst eine Verquellung des Infusorienleibs eintreten müßte.

Bezüglich der Dialkaliphosphate können wir also wohl sagen, daß sie keine Verbindungsfähigkeit mit dem Plasmaeiweiß besitzen, ferner daß sie eine schädliche Wirkung nur bei relativ hoher Konzentration, mindestens 2.5%, hervorzurufen vermögen, und zwar durch Wasserentzug. Dieser Wasserentzug führt aber zum Absterben!

Wie verhält sich nun Natriumcarbonat (Na_2CO_3), ein stark alkalisch reagierendes Salz? Ich ließ zunächst 2.5%ige Natriumcarbonatlösung auf meine Infusorien einwirken und bemerkte augenblickliche Abtötung, wenn die Vermischung des infusorienhaltigen Tropfens mit der alkalischen Lösung plötzlich geschah. Statt jeden Infusoriums war dann eine verquollene körnige Masse da.

Läßt man die Sodalösung langsam seitwärts unter dem Deckglas

eintreten, so bemerkt man, daß die Infusorien möglichst rasch zurückweichen und eine sehr beträchtliche Steigerung in der Bewegung erfahren; sie eilen, wie von einem heftigen Reiz angefacht, äußerst lebhaft hin und her. Diejenigen aber, welche nicht rechtzeitig entkommen sind, sterben fast momentan ab und verwandeln sich unmittelbar darauf zu einer formlosen körnigen Masse.

Viele Bakterienarten gedeihen nur in alkalisch reagierenden Flüssigkeiten; oft enthalten dieselben Kalium- oder Natriumcarbonat bis zu 0,5%. 0,8% hingegen wird von den Typhusbazillen nicht mehr ertragen, 1% von den Cholerabazillen nicht (Liborius).

Nach Schröder (Arch. f. exp. Path. 1886) leben Ascariden in 5,8%iger Natriumcarbonatlösung 5—6 Stunden lang.

O. Loew beobachtete in dem stark alkalisch reagierenden Wasser des Owers Lake, welches unter anderm 2,5% kohlensaures Natron enthält, am Ostabhange der Sierra Nevada in Kalifornien zahlreiche lebende Infusorien, Copepoden, Larven einer gewissen Fliegenart (*Ephydra*), ferner Schimmelpilze (Petermanns geogr. Mitt. 1877).

Die Karbonate der Alkalien sind also weit weniger schädlich als die freien Alkalien. Läßt man 0,1% Kalilauge auf Mikroorganismen, Wasserpflanzen und Wassertiere einwirken, so sterben dieselben fast augenblicklich ab. In 0,01%iger Kalilauge sogar schienen mir Infusorien, die ich in einem Pflanzenaufguß gezogen hatte, fast augenblicklich auf die geringe Alkalimenge (als Reizmittel) zu reagieren. Dann aber zeigte sich keine weitere Störung mehr. Nach 24 Stunden waren die Infusorien noch am Leben und lebhaft beweglich. Da nun viele Infusorien in paarweiser Verschmelzung angetroffen wurden, scheint die Spur Kali in jener 0,01%igen Lösung diesen Vorgang zu begünstigen.

Aminbasen. Durch Substitution des Wasserstoffs im Ammoniak (NH_3) durch organische Radikale wie CH_3 oder C_2H_5 entstehen Stoffe, welche wie das Ammoniak basische Natur besitzen. Solche organische Basen wirken nun auf das Protoplasma wie Ammoniak. Ich untersuchte die Wirkung des Mono-, Di- und Triäthylamins ($NH_2.C_2H_5$, $NH.(C_2H_5)_2$ und $N(C_2H_5)_3$), ferner das Tetraäthylammoniumhydroxyd ($N(C_2H_5.)_4$ OH) welches dem Ammoniumhydroxyd ($NH_4.OH$) entspricht. Diese Stoffe bewirken bei Spirogyren die Granulation des aktiven Albumins in ebenso ausgezeichneter Weise wie das Ammoniak selbst, und zwar ebensowohl als freie Basen wie in Salzverbindungen — ganz wie bei Ammoniak.

Läßt man 0,1%ige Lösung von salzsaurem Monoäthylamin auf kräftig vegetierende Fäden von *Spirogyra maxima* einwirken, so zeigt sich erst nach längerer Zeit (wahrscheinlich weil das Salz von dem Proto-

plasma erst gespalten werden muß) eine sichtbare Veränderung. Nach 2stündigem Aufenthalt in der Lösung zeigte sich bei meinen Versuchen noch nichts Auffälliges, nach 5 Stunden aber war die Granulation in den lebenden Zellen bereits eingetreten.

Einige Amidoverbindungen, bei denen mehr die Giftwirkung in den Vordergrund tritt, wurden vom Verfasser früher schon studiert (Pflügers Arch. 1896, S. 294):

Anilin, $C_6H_5 . NH_2$, ist nur in geringem Maße schädlich für niedere Pflanzen und Tiere. Denn in einer 0,1%igen Lösung, welche hergestellt wurde durch Lösen von 0,5 g Anilin in Alkohol und langsames Eingießen dieser Lösung in 500 ccm Wasser unter fleißigem Umrühren, starben Algen und Infusorien binnen 6 Stunden nicht ab. Sogar nach 48 Stunden waren noch viele Conferven und Vaucherien lebendig, andre waren abgestorben, die Tiere erschienen insgesamt leblos. Die Auflösung reagierte ganz schwach alkalisch, so daß empfindliches Lackmuspapier kaum merklich damit reagierte. Ein direkter Vergleich mit Benzol, C_6H_6, aus welchem sich Anilin durch Eintritt von NH_2 statt einem H ableitet, ist hier nur möglich, wenn das Anilin in der Verdünnung 0,02% angewendet wird; denn Benzol läßt sich nicht gut in stärkerem Prozentsatz lösen. Der Vergleich der 0,02% Lösungen ergab, daß Benzol etwas schädlicher ist als das Anilin.

In einer 0,05%igen Lösung von Amidobenzoesäure $C_6H_4 \begin{matrix} NH_2 \\ COOH \end{matrix}$, welche durch Lösen von 0,1 g der Säure in etwas Alkohol und Eingießen dieser Lösung in 200 ccm Wasser hergestellt worden war, blieben Vaucherien, Conferven, Spirogyren und Infusorien 24 Stunden lang am Leben; *Cladophora* starb ab. Selbst nach 72 Stunden waren noch viele der eingesetzten Organismen lebendig. Vergleicht man damit das Verhalten der Benzoesäure, $C_6H_5 . CO_2H$, so zeigt sich, daß durch Einführung der Amidogruppe NH_2 in das Molekül die Giftigkeit herabgesetzt wird. Denn Benzoesäure in 0,1%iger Lösung wirkt tödlich binnen 24 Stunden auf Vaucherien, Conferven, Cladophoren und Infusorien ein. Auch nach dem Neutralisieren wirkt diese Lösung noch schädlich; in derselben sterben viele Algen binnen 24 Stunden ab, desgleichen Infusorien.

Diamid, $NH_2 . NH_2$, tötet nach O. Loew Algen, niedere Pilze, Infusorien und niedere Wassertiere (auch in völlig neutralen Lösungen) rasch ab. Noch bei einer Verdünnung von **1 : 10000** tötet das Sulfat verschiedene Algenarten in 1—2 Tagen, bei 1 : 2000 binnen 12 Stunden verschiedene Wassertiere; noch bei 1 : 5000 wirkt es bakterienfeindlich. 0,5 g des Diamidsulfats töten nach H. Buchner ein Kaninchen in $1^1/_2$ Stunden.

Phenylhydrazin, $C_6H_5 . NH . NH_2$, tötet bei einer Verdünnung von **1 : 15 000** nach 18 Stunden alles tierische wie pflanzliche Leben des Wassers (O. Loew, Pflügers Arch. XXXV, 526), während das so nahestehende Anilin (als salzsaures Salz) bei gleicher Verdünnung alles intakt läßt. Selbst bei 1 : 50 000 wirkt jenes Salz noch giftig auf niedere Organismen. Bei 0,05% wird Schimmel- und Bakterienentwicklung verhindert. »Der am Stickstoff haftende Wasserstoff kann unter Umständen äußerst leicht, unter andern wieder nur schwer in Aldehydgruppen eingreifen, benachbarte Gruppen bedingen dessen Labilitätsgrad, die Reaktionsfähigkeit.« (Loew, Giftwirkungen, S. 43).

Schon vor mehreren Jahren wurde von Loew und Verfasser der Harnstoff, $NH_2 . CO . NH_2$, auf sein Verhalten gegen Algen geprüft. In 0,2%igen Lösungen starben Spirogyren bei 5tägiger Versuchsdauer ab: desgleichen in 0,2%igen Lösungen von Sulfoharnstoff, $NH_2 . CS . NH_2$. Ich löste nun Harnstoff zu 0,05% in Wasser auf und fand, daß darin Spirogyren mehrere Tage lang unbeschädigt blieben und sogar Stärke ansetzten, aber nicht soviel wie bei Tyrosin (Chem. Ztg. 1894, Nr. 2).

Hydroxylamin, $NH_2 . OH$, (und Ammoniak) in 0,05%iger Auflösung bewirkt nach O. Loew (Pflügers Arch. XXXII, S. 113) bei Spirogyren eine Veränderung des aktiven Albumins, wobei die Reduktionsfähigkeit für Silberlösung nicht erlischt; die Algen sterben dabei ab.

Für Diatomeen, Infusorien und niedere Wassertiere ist Hydroxylamin ein sehr starkes Gift (nach O. Loew). In einer 0,01%igen Auflösung von salzsaurem Hydroxylamin starben binnen 36 Stunden alle Infusorien ab; Diatomeen verloren ihre Bewegungs- und Lebensfähigkeit sogar in einer 0,001%igen Lösung binnen 1 Tage. Infusorien lebten in der Lösung 1 : 100 000 noch nach 3 Tagen. Essigsaures Strychnin in gleicher Verdünnung vermochte die Diatomeen nicht abzutöten; dieselben assimilierten vielmehr ruhig weiter.

Nach Loew ist Hydroxylamin ein allgemeines Gift (für alle Organismen), was in seiner Reaktionsfähigkeit auf Aldehydgruppen bedingt ist.

»Ohne Zweifel (O. Loew a. a. O. S. 525) greift es direkt in jene die Lebensbewegung bedingende Atomgruppierung des lebendigen Eiweißes ein. Arsenverbindungen, Blausäure, Strychnin sind durchaus keine allgemeinen Gifte. Arsensaures Kali ist kein Gift für Algen, Pilze und Infusorien, Blausäure keines für Hefe und auch andres Pflanzenprotoplasma, Strychnin keines für Schimmel. Das neuerdings als Gift erkannte Neurin ist nur ein solches für höhere Tiere, es ist keines für niedere Pilze, auf einer Lösung von weinsaurem Neurin entwickelt sich die üppigste Schimmelvegetation.«

» Was das Hydroxylamin betrifft, so besteht wohl kein Zweifel darüber, daß es ein Gift in des Wortes allgemeinster Bedeutung ist.«

Für Algen ist Hydroxylamin ein sehr starkes Gift, wie aus obiger Mitteilung hervorgeht; denn schon die Verdünnung 1 : 100 000 ist hier schädlich, ja sogar tödlich. Nur die allerschärfsten Gifte wirken noch bei dieser Verdünnung.

Um die Wirkung des Coffeins mit der des Antipyrins zu vergleichen, wurde eine kleine Portion Infusorien (aus einer Spirogyrenkultur entnommen) in a) Coffein 0,1%, b) Antipyrin 0,1% gebracht und darin — auf dem Objektträger mit aufgesetztem Deckglas — mehrere Tage belassen. Dabei trocknete, trotz Aufstellung in einer feuchten Kammer, die Flüssigkeit allmählich auf die Hälfte der ursprünglichen Menge ein. In Coffein war bald eine Veränderung der Infusorien zu bemerken, sie machten nur noch ruckweise oder auch um ihren Mittelpunkt drehende Bewegungen, nach 5 Tagen waren sie ganz abgestorben und somit bewegungslos. Hingegen zeigten die Antipyrininfusorien am 5. Tage noch lebhafte Bewegung und überhaupt unveränderte Beschaffenheit. Erst als ich nun durch Liegen des Präparats an der Luft die Flüssigkeit noch weiter bis auf einen kleinen Rest eintrocknen ließ, gerieten die Infusorien in zuckende Bewegungen und starben schließlich ab. Die noch beigemischten *Spirogyra*-Fäden hatten bei Coffein und Antipyrin reichlich Proteosomenausscheidung im Zellsafte ergeben; die Coffeinfäden waren nach 4 Tagen abgestorben, die Antipyrinfäden am 5. Tage noch lebend.

Mit 1% Antipyrin aber stellten sämtliche Infusorien ihre Bewegungen sehr bald ein; nur an wenigen Individuen war nach 5 Minuten noch zuckende Bewegung sichtbar.

Das Antipyrin ist Phenyldimethyl-pyrazolon $C_{11}H_{12}N_2O = C_3H(CH_3)_2N_2(C_6H_5)O_{1,2,3} =$. Es ist eine starke einsäurige Base. Ihm kommt also eine ganz andre Molekülbeschaffenheit zu als dem Coffein, welches zu den Carbamiden in der Fettreihe gehört und in die Nähe der Harnsäure zu stellen ist. Das Coffein ist offenbar schädlicher als das Antipyrin. Auf die beigemischten Algen (*Spirogyra* und *Vaucheria*) übte das letztere selbst bei der Konzentration 1% keine augenblicklich schädliche Wirkung. Die Fäden waren nach 5 Minuten noch turgeszent. In den *Spirogyra*-Fäden war der schon erwähnte Proteosomenniederschlag entstanden, die Fäden hatten dadurch eine dunkle undurchsichtige Beschaffenheit angenommen.

Ein Versuch mit wesentlich größeren Infusorien (Paramäcien)

(die vorhin erwähnten waren kleinere Infusorienarten) ergab, daß 1% Antipyrin an diesen Tierchen dieselben hochinteressanten Veränderungen hervorbringt, wie sie oben bei 0,1—0,01% Coffein beschrieben wurden. Die Infusorienleiber werden häufig kugelig und dabei schaumig, wie von zahlreichen kleinen Vacuolen erfüllt; manchmal werden auch nur die schon vorhandenen Vacuolen größer, das Plasma entsprechend dichter und stärker lichtbrechend. In einigen Fällen sah ich auch, daß der Inhalt des Infusoriums in viele kleine Kugeln geballt war, welche zur Leibesöffnung hervordrangen. Die vorhin erwähnten schaumigen Kugeln drehten sich nach 2stündiger Einwirkung der Lösung vielfach noch im Kreise oder um ihren Mittelpunkt; eine willkürliche, nach einer bestimmten Richtung gehende rasche Bewegung war nicht mehr vorhanden.

Bei einem gleichzeitig aufgestellten Coffeinversuch mit 0,1% Coffein waren die Paramäcien nach 2 Stunden größtenteils schon bewegungslos; nur wenige zeigten die eben geschilderten Übergangsstadien vom normalen Zustande zum toten.

Schluß. Da die erwähnten Beobachtungen bisher selbst bei botanischen Forschern wenig und zum Teil unrichtig gewürdigt wurden, wiewohl sie teilweise schon vor Jahren in botanischen Zeitschriften klar zur Beschreibung kamen, so möge diese erneute und erweiterte Publikation, worin die neuen Beobachtungen mit den früheren zu einem übersichtlichen Ganzen zusammengefaßt sind, das Interesse des naturwissenschaftlichen Publikums und insbesondere der Zoologen und Botaniker, intensiver als bis jetzt erwecken. Es handelt sich hier um eine naturwissenschaftliche Streitfrage ersten Ranges. Sind die beschriebenen Reaktionen solche des lebenden Stoffes (Protoplasmas) selbst oder nicht?

Zur Orientierung mögen noch einmal die Hauptpunkte kurz hervorgehoben werden.

Die Reaktion mit Coffein, Antipyrin und andern Basen tritt an der abgestorbenen Zelle nicht ein.

Wendet man stärkere Konzentrationen der Basen an, als sie oben angegeben wurden, so unterbleibt die beschriebene Reaktion, weil eben das Reagens selbst das Absterben der betreffenden Zelle hervorruft. Bei Pflanzenschnitten kann man beide Fälle, das Reagieren und Nichtreagieren nebeneinander beobachten, indem erstens manche Zellen durch das Anschneiden getötet sind, zweitens die direkt von dem Reagens getroffenen (am Schnittrande gelegenen) Zellen bei relativ starken Konzentrationen des Reagens die intravitale Reaktion nicht ergeben (weil sie absterben), während weiter innen gelegene Zellen die Aggregationserscheinungen zeigen, weil sich das Reagens bei seinem Vordringen verdünnt.

Es treten beim Absterben der Zellen keine Stoffe aus, welche die Reaktion geben; sonst müßte die Reaktion dann außerhalb der Zellen eintreten.

Wir haben es also mit einem Stoffe zu tun, der in der lebenden Zelle vorhanden ist, beim Absterben nicht austritt und doch keine Reaktion mit sehr verdünnten Basenlösungen mehr gibt.

Es muß demnach ein Stoff sein, der seine chemische Beschaffenheit beim Absterben ändert.

Dieser Stoff muß Eiweißnatur haben; denn die Proteosomen ergeben, wie früher geschildert wurde, alle charakteristischen Eiweißreaktionen, insbesondere die bezeichnendste von allen, die Gerinnungsreaktion. Bei lebenden Organen wie der Vacuolenwand wird ohnedies niemand die Eiweißnatur bestreiten; denn es gilt wohl jetzt als unumstößlich feststehend, daß lebende Organe aus Proteinstoffen aufgebaut sind. Nur die Zellsaftproteosomen könnten noch angezweifelt werden, wenn nicht Loew und Verfasser durch zahlreiche Experimente bewiesen hätten, daß sie im wesentlichen aus Eiweiß bestehen, dem mehr oder weniger Gerbstoff anhaften kann.

Es handelt sich um aktives Albumin (siehe O. Loew und Verfasser, Chem. Kraftqu. i. leb. Protopl. und vielen andern Abhandlungen).

Dasselbe wird durch Spuren Coffein zur Proteosomenbildung, Aggregation, veranlaßt. Im Laufe längerer Zeit verbindet sich immer mehr Coffein mit dem aktiven Albumin und tritt der Punkt ein, wo der Zustand des Lebens schwindet und die Veränderung nicht mehr rückgängig gemacht werden kann.

Andre Stoffe als Basen (oder höchstens deren Salze) eignen sich meist nicht zur Erzeugung von Aggregationserscheinungen; die Salze dissoziieren sich bekanntlich in wässeriger Lösung in Base und Säure, auch wirkt bekanntlich das lebende Plasma spaltend auf viele Salze ein.

Überraschend war mir die Mitteilung F. Czapeks, daß auch mit Formaldehyd Proteosomen erhalten werden können. Es heißt S. 153 der Ber. d. d. b. G. 1910: »Neu ist meine Feststellung, daß der *Echeveria*-Gerbstoff durch Formalin in Form eines unlöslichen Niederschlags vom Aussehen der Coffeinfällung ausgeschieden wird. Die wirksamen Konzentrationsgrenzen sind zwischen $^1/_{64}$ und $^1/_{512}$ des käuflichen 40%igen Formalins[1]). Stärkere Konzentrationen fällen nicht, weshalb diese Erscheinung wohl bisher übersehen worden ist. Hierbei dürfte eine

[1]) D. i. 0.64 bis 0.08% Formaldehyd.

Methylenverbindung des Gerbstoffs ausgeschieden werden. Dieselbe ist in Wasser völlig unlöslich im Gegensatz zu der Coffeinfällung, welche sich binnen 12 Stunden völlig in Wasser löst.«

Einige Proben im Reagensglas ergaben mir, daß Tannin weder im konzentrierten noch im verdünnten Zustande mit 0,5 oder 0,1 oder 10 oder 20—40%iger Formaldehydlösung einen Niederschlag ergibt.

Die mikrochemische Untersuchung gerbstoffhaltiger Zellen stimmte mit diesem Befund überein. Ich ließ 0,5% Formaldehyd auf Zellen von lebenden Galläpfeln (der einheimischen Eiche) einwirken und bekam keinen Niederschlag! Der Schnitt wurde so angefertigt, daß außer den angeschnittenen Zellen auch noch unangeschnittene da waren; trotzdem zeigte sich keinerlei Niederschlag.

Ich ließ ferner 0,5% Formaldehyd auf Schnitte von Blättern der *Cotyledon* sp.? einwirken; sie enthält in den subepidermalen Zellen eisenbläuenden Gerbstoff. Wiederum kein Niederschlag!

Endlich ließ ich 0,5% CH_2O 12 Stunden auf Blattschnitte von *Paeonia* einwirken, die ebenfalls Gerbstoff enthalten. Es ergab sich auch kein Niederschlag. Mit Coffein von 1,3% erhielt ich dann noch eine schwache Aggregation in mehreren Zellen. Durch einen eignen Versuch mit Eisenvitriol überzeugte ich mich davon, daß dieselben Zellen, welche mit 1,3%iger Coffeinlösung Proteosomen gaben, auch reichlich Gerbstoff (eisenbläuenden) enthielten.

Es ist zu bedauern, daß Czapek nicht klar unterscheidet zwischen den Ausscheidungen im Plasma und im Zellsaft. Bezüglich der letzteren mag die von Czapek geäußerte Ansicht, daß Gerbstoffällungen die Hauptrolle bei den Ausscheidungen mit Coffein in den subepidermalen Zellen der *Echeveria*-Blätter spielen, richtig sein. Die Frage, ob die Proteosomenbildung im Cytoplasma oder im Zellsaft bei *Echeveria*-Zellen auftritt, ist durchaus nicht von geringer Bedeutung, da dieser Punkt zur Erklärung der Natur des Niederschlags herangezogen werden muß. Im Cytoplasma befindet sich niemals Gerbstoff! Auch sei hervorgehoben, daß die Gerinnbarkeit ein viel wichtigeres Unterscheidungsmerkmal als Millons Reaktion oder die Biuretreaktion und alle Färbungen ist, da die letzteren Gruppenreagentien sind.

Übrigens erhält man auch mit diesen die gewöhnlich für Eiweiß angeführten Reaktionen an Proteosomen; nur muß die entsprechende Vorsicht walten.

Meine früheren Beobachtungen über *Echeveria* sind teilweise schon oben erwähnt worden. Hören wir, was neuerdings Czapek darüber sagt: »Wer die Coffeinfällung in den *Echeveria*-Blattzellen zum erstenmal sieht,

wird unwillkürlich an die von fettigen Stoffen, besonders von Lecithin her bekannten Myelinformen in Wasser erinnert.« Czapek findet aber doch schließlich die anwesende Menge von Fett nicht groß. Nun wie ist es mit dem Eiweißgehalt der Proteosomen? Czapek sagt darüber: »Ich will auf Grund meiner Erfahrungen nicht in Abrede stellen, daß ein gewisser Gehalt an Proteinstoffen immer oder in manchen Fällen vorhanden sei.«

Wer die angeführten Experimente des Verfassers mit Sorgfalt wiederholt, wird kaum darüber im Zweifel bleiben, daß es sich hier tatsächlich um Reaktionen eines sehr leicht veränderlichen Eiweißstoffs, des von Loew und Verfasser als »aktives Albumin« bezeichneten Stoffes handelt. Der Gehalt der Proteosomen an Proteinstoff ist das Wesentliche daran, das übrige ist Beimengung. Die sich kontrahierenden Zellorgane bestehen selbstverständlich aus Proteinstoff.

Sulla presenza di formazioni mitocondriali negli elementi costitutivi delle Tonsille palatine normali, ipertrofiche e delle Vegetazioni adenoidi.

Per

Gaspare Alagna.

(Istituto di Medicina operatoria della R. Università di Palermo
Direttore Prof. G. Parlavecchio.)

Con 6 Figure nel Testo.

La complessa dottrina dei Mitocondri, sin da quando Benda introdusse nella tecnica istologica il metodo del kristal-violett, divenuto ormai classico, non ha cessato un momento di attirare a sè l'attenzione degli studiosi.

In questi ultimi anni poi, in cui gli studi di citologia hanno assunto un' importanza notevole, il problema mitocondriale ha esercitato addirittura un fascino per molti ricercatori.

È naturale, quindi, che i metodi adatti a mettere in evidenza le forme mitocondriali, e di cui faremo breve cenno fra poco, sieno stati applicati ai tessuti ed agli elementi più svariati: dal tessuto nervoso (Nageotte, Alagna etc.) a quello connettivale ed epidermico (Samssonow).

Fra gli elementi molto poco studiati, relativamente alla presenza di Mitocondri, sono in prima linea quelli costitutivi del sangue e degli organi emato-poietici in genere.

Nell' estesissima letteratura dei Mitocondri non troviamo che scarsi accenni agli elementi in parola; e solo in epoca recente, come vedremo fra poco, alcune strutture descritte anteriormente alle ricerche di Benda vennero considerate tra le formazioni mitocondriali.

Flemming fin dal 1882 osservò nelle Wanderzellen viventi delle larve di *Salamandra* e nei corpuscoli bianchi di Salamandre adulte, di

Tritoni e Rane una struttura filamentosa (Fadenbau), struttura confermata ulteriormente da numerosi sperimentatori. Su detta struttura, la cui identità con i Condriosomi Meves ha creduto di dimostrare assai più tardi (1907), Flemming non si pronunzia però in modo decisivo.

A formazioni mitocondriali debbono anche probabilmente riferirsi i reperti che i fratelli Zoia, servendosi del metodo Altmann, descrissero nel 91 oltre che negli organi più svariati anche negli elementi delle ghiandole linfatiche, del midollo osseo e nei Leucociti di numerosi Protozoi e Metazoi. Trattavasi di granuli fuxinofili, che Maggi denominò Plastiduli.

Nel 1899 Benda descrisse nei Leucociti polinucleati di un polipo nasale dei gruppi di Mitocondri, di forma allungata, quasi bastonciniformi, disposti di fronte al Centrosoma, alla periferia della Centrosfera. Anche in un midollo osseo leucemico lo stesso Benda trovò molti elementi con piccoli gruppi di granuli disposti in fila, che non avrebbero niente a che fare nè coi granuli di Ehrlich, nè con quelli di Altmann. Benda identifica le formazioni da lui rinvenute coi Microsomi di van Beneden, di M. Heidenhain e di Kostanecki.

Nel 1907 Meves osservò nei Leucociti di larve di *Salamandra* granuli sparsi irregolarmente nel citoplasma. Al luogo dei granuli si trovano a volte piccoli filamenti, aventi direzioni diverse. Meves, contrariamente a Benda, crede che le formazioni in parola non abbiano nulla a che fare coi Microsomi di H. Heidenhain, e che si tratti invece di vere e proprie formazioni mitocondriali.

Contemporaneamente Schridde nei linfociti del sangue e dei noduli linfatici dimostra la presenza di granuli, che si tingono in rosso col metodo Altmann-Schridde, che si dispongono specialmente attorno al nucleo, e che talora hanno aspetto bastonciniforme[1]). L'Autore si limita a denominarli specifici, ed a catalogarli accanto a quelli di Ehrlich.

Fino, dunque, al 1907 gli Autori non si pronunciano in modo reciso sulle formazioni granulari e filamentose da essi rinvenute negli elementi del sangue e degli organi emato-poietici in genere, e due dottrine pare che tengano il campo nell' interpretazione dei loro reperti, quella della Filarmasse di Flemming e la dottrina granulare (Granulalehre) di Altmann, quest' ultima in particolar modo.

---

[1]) Ceconi di Torino ha il merito d'essere stato il primo ad osservare e descrivere, in un lavoro che non trovo citato da alcuno, le granulazioni dei linfociti. Dopo di lui e sempre prima dello Schridde, pare sia stato l'Arnold a mettere in evidenza nei linfociti del midollo osseo dei minutissimi granuli, a mezzo della colorazione vitale al rosso neutro (Plasmosomi di Arnold).

È merito specialmente di Meves di avere intravisto l'analogia dei reperti di sopra accennati. Per Meves i Condriosomi dei leucociti (Benda-Meves) ed i granuli di Altmann-Schridde dei linfociti sono delle formazioni sostanzialmente identiche fra di loro non solo, ma anche coi filamenti osservati primitivamente da Flemming nelle Wanderzellen viventi. Questa opinione di Meves troverebbe una conferma nelle ricerche da lui praticate nei corpuscoli bianchi del sangue di larve di Salamandre e Salamandre adulte in questi ultimi mesi. L'Autore, impiegando i metodi comuni pei Condriosomi, avrebbe trovato delle formazioni mitocondriali diverse, variamente aggruppate in tutti i corpuscoli bianchi (linfociti, grandi leucociti mononucleati, polinucleati) all' infuori degli elementi eosinofili, in cui i Condriosomi o esisterebbero in scarso numero o non esisterebbero affatto. Le formazioni in parola si metterebbero perfettamente in evidenza anche col metodo Altmann-Schridde. Lo stesso fatto Meves ha finora potuto osservare per le ghiandole linfatiche di alcuni Mammiferi (coniglio-ratto), in cui innumerosi granuli perinucleari dei linfociti, messi in evidenza coll' Altmann-Schridde, si lascerebbero anche dimostrare benissimo coi metodi propri dei Condriosomi.

Recentissimamente Ciaccio si occupa della quistione dei Mitocondri, e studia accuratamente la loro distribuzione e topografia negli organi emato-poietici di alcuni Mammiferi. Per quanto riguarda il tessuto linfoide questo autore descrive formazioni granulari e bastonciniformi, colorabili sia col metodo Benda-Meves, sia con uno speciale procedimento derivato da quello di Galeotti, sia coll' Ematossilina ferrica.

* * *

Trattandosi d'una quistione così palpitante d'attualità noi abbiamo voluto estendere le ricerche a materiale umano. Per avere materiale nello stato di assoluta freschezza abbiamo rivolto il nostro studio alle Tonsille palatine e faringee ipertrofiche. Come materiale normale di controllo ci siamo serviti di Tonsille di cane.

Tecnica. — La tecnica da noi seguita è stata la seguente:

A. 1. Fissazione di pezzettini di tessuto dello spessore di pochi millimetri in liquido Ciaccio, in cui la quantità di acido acetico è ridotta a poche gocce (Bicromato potassico al 5% 100 ccm; formolo-soluz. al 40% 20 ccm; acido acetico 4—5 gocce).

2. Cromizzazione successiva per circa una settimana in soluz. di Bicromato di potassa al 3% in stufa.

3. Lavaggio in acqua corrente etc.

Quanto a metodi di colorazione ci siamo attenuti o al metodo dell' Ematossilina ferrica di Heidenhain[1]), preconizzato da Meves per la dimostrazione dei Mitocondri, o al metodo di colorazione di Ciaccio[2]) che è una modificata a quello di Galeotti. Con quest' ultimo metodo noi abbiamo ottenuto dei preparati d'una finezza ed eleganza squisita.

B. Buono abbiamo pure trovato il metodo di Altmann, modificato da Schridde (V. lavori di Schridde) che per comune accordo degli Autori (Prenant, Meves etc.) mette anch' esso in evidenza le formazioni mitocondriali.

* * *

Prima di passare alla descrizione delle forme mitocondriali da noi rinvenute è bene dare uno sguardo d'insieme alla fine struttura della Tonsilla palatina normale, ipertrofica e delle Vegetazioni adenoidi.

Tonsilla palatina normale. La Tonsilla, come ogni organo linfatico in genere, è fondamentalmente costituita da 2 ordini di elementi, e cioè da: 1. Linfociti dal nucleo variabile per forma e con protoplasma fortemente basofilo e da Mononucleari in genere, e da 2. elementi fissi, rappresentati da elementi connettivali, aventi forma fusata, nucleo ovalare od allungato e protoplasma acidofilo. Alcuni di questi ultimi elementi, ingrandendosi via via ed acquistando forma rotondeggiante, possono diventare Macrofagi.

Quello poi che caratterizza la Tonsilla palatina è il fatto che tutti gli elementi detti si dispongono in modo da costituire dei follicoli, formazioni ovalari o addirittura rotonde, variabili per numero e costituzione.

Come sappiamo da Flemming in poi, specie per i lavori di Besançon e Labbé, si distinguono follicoli in riposo e follicoli in attività: i primi costituiti da linfociti e da mononucleati di media taglia, i secondi da due zone: una periferica anch'essa con linfociti e mononucleati ed un' altra centrale, in cui si notano cellule germinative, molte delle quali in fase cariocinetica, e Macrofagi ripieni di corpi tingibili.

Come si forma la detta zona centrale, o centro germinativo? Abbiamo due teorie principali: quella di Flemming che ammette l'origine delle

[1]) Il metodo dell' Ematossilina ferrica è stato da noi anche applicato a pezzi precedentemente fissati nella miscela di Flemming, modificata da Meves.

[2]) Colorazione delle sezioni in soluzione di fuxina acida in acqua d'anilina per 24—48 ore alla temperatura di 30—37°. Decolorazione in soluzione satura di acido picrico ed alcool a 95° a parti uguali. Lavaggio in alcool a 95° per scacciare l'eccesso di acido picrico. Colorazione di contrasto con verde iodo in soluzione all' uno per cento in alcool a 50° per 10—15 minuti circa. Serie degli alcool-xilolo, balsamo neutro di Grübler.

cellule germinative dai linfociti, e l'opinione di RETTERER, che distingue fondamentalmente due fasi. Nella prima si avrebbe la formazione d'un plasmodio omogeneo, che poi diverrebbe reticolato per parziale fluidificazione del plasma comune; nella seconda poi avrebbe luogo la formazione di cellule germinative per individualizzazione delle energidi connettivali. Ad ogni modo, qualunque sia l'origine del centro germinativo, relativamente alla distribuzione degli elementi costitutivi della Tonsilla palatina, possiamo affermare che i linfociti, i mononucleari ed i Macrofagi si trovano a preferenza nei follicoli linfatici, mentre gli elementi fissi si addensano a preferenza negli spazi perifollicolari.

Un' altra formazione è da considerare nella Tonsilla palatina: la mucosa di rivestimento. Questa che, come è noto, è una dipendenza della mucosa orale, riveste tutta quanta la superficie dell' amigdala, penetrando per fin nelle cripte[1]) ed è costituita da un epitelio pavimentoso stratificato a tipo ectodermico. Le cellule superficiali sono piatte, lamellari, spesso nucleate, a volte cornee; le cellule dello strato medio sono invece poliedriche. Le cellule profonde, cilindriche, limitano le papille del derma.

Tonsilla palatina ipertrofica. La Tonsilla palatina ipertrofica, relativamente alla sua fine struttura, somiglia in grandissima parte alla Tonsilla normale, non differendone che per l'ipertrofia et iperplasia dei follicoli linfatici e del rivestimento epiteliale. Inoltre i follicoli della Tonsilla ipertrofica sono costituiti da un gran numero di grandi linfociti o Linfogonie o Linfoblasti, di cui moltissimi esemplari si trovano in fase cariocinetica. In mezzo alle Linfogonie, come nelle tonsille normali si rinvengono dei piccoli linfociti, riconoscibili al nucleo caratteristico ed alla scarsezza del protoplasma. A volte la proliferazione delle Linfogonie è così attiva da costituire esse quasi da sole l'intero follicolo. In mezzo alle Linfogonie trovansi costantemente numerosi Macrofagi in attività digestiva, che assumono spesso un volume enorme.

Quello poi che caratterizza in modo speciale la Tonsilla ipertrofica è la grande abbondanza di Plasmazellen, che possono avere delle forme svariate; mentre, come è noto, nelle tonsille normali le Plasmazellen in parola si trovano in scarso numero, o non esistono affatto, trattandosi probabilmente più che di vere e proprie Plasmazellen delle così dette Pseudoplasmazellen.

---

[1]) Come è noto la superficie libera della Tonsilla presenta nell' uomo un gran numero di cripte, disposte senza ordine e variamente profonde. È noto anche che in alcuni Mammiferi (Cane-coniglio) non esiste che una sola cripta verticale in forma di fenditura profonda dividente la tonsilla in due metà.

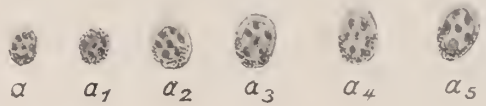
Vegetazioni adenoidi. In un lavoro che vedrà fra poco la luce nell' Archivio di Virchow io ho distinto, a proposito dell' architettura grossolana delle Vegetazioni adenoidi, due forme: una forma diffusa, che pare propria della primissima età, ed una forma follicolare, caratteristica dell' età più avanzata.

Nella forma diffusa, pur esistendo tutti gli elementi del tessuto linfatico, non vi ha accenno a follicoli; in quella follicolare, invece, troviamo l'identica struttura che nella Tonsilla palatina ipertrofica. L'unica differenza tra le due formazioni è posta nei caratteri dell' epitelio di rivestimento, che è cilindrico a ciglia vibratili nelle vegetazioni, pavimentoso stratificato nella Tonsilla palatina.

Dato così un breve sguardo alla fine struttura della Tonsilla palatina normale, ipertrofica e delle Vegetazioni adenoidi, veniamo ora al modo come sono distribuiti e come si presentano i Mitocondri nelle formazioni in parola.

Mitocondri della Tonsilla palatina normale ed ipertrofica. Le

Fig. 1[1].



a, a_1, a_2, Linfociti; a_3, a_4, a_5, Mononucleati di media taglia.

cellule, di cui risulta costituito l'epitelio della mucosa tonsillare, si mostrano del tutto prive di granuli mitocondriali, all' infuori di quelle basali cilindriche, che, nella porzione di protoplasma rivolta verso la membrana basale, presentano finissimi granuli ben colorabili tanto col metodo della fuxina acida che con quello dell' Ematossilina ferrica. Essi sono disposti in molteplici catenelle attorno ad un polo del nucleo, e talora, a causa della loro speciale instaposizione, assumono l'aspetto di bastoncini corti.

I granuli che talora si notano in mezzo agli elementi poliedrici ed a quelli lamelliformi più superficiali, e che ne segnano perfettamente i limiti, non rappresentano altra cosa che la sezione trasversa delle spine protoplasmatiche, caratteristiche degli elementi in parola.

Un comportamento assai diverso offrono però gli elementi che costituiscono l'epitelio delle cripte. Nella cripta, in cui (sia detto per incidente)

[1]) I disegni furono eseguiti su preparati allestiti col metodo Galeotti-Ciaccio. Tutte le formazioni mitocondriali disegnate in nero ebano, presentano nei preparati un colorito rosso scarlatto.

l'epitelio perde qualcuno dei caratteri propri dell' epitelio superficiale, le formazioni mitocondriali, abbondantissime sia nelle Tonsille normali che in quelle ipertrofiche, si rinvengono in tutti gli elementi delle filiere epiteliali, e sono fondamentalmente rappresentate da granuli per grandezza e posizione variabili. Accanto a granuli minutissimi ed appena visibili non è difficile incontrarne degli altri del diametro di 1 μ ed anche più. Essi in generale sono disposti nella porzione perinucleare del citoplasma, costituendo come una corona attorno al nucleo. Spesso, però, occupano tutto il citoplasma, all' infuori della porzione più periferica di esso.

Le formazioni mitocondriali non mancano per fino negli elementi necrobiotici o in via di necrobiosi caduti nel lume delle cripte. Qui, per vero, è facile incontrare degli elementi lamelliformi talora provvisti di nucleo e talora sprovvisti e ridotti quasi a delle masse necrobiotiche, carichi di granuli fuxinofili, simili a cocchi, variamente sparsi nell' ambito del citoplasma. Negli elementi nucleati è assai frequente la disposizione

Fig. II.

a, a_1, Linfoblasti in riposo; a_2, a_3, Linfoblasti in fase cariocinetica.

perinucleare (da 4 — ad 8 granuli). A volte alcuni granuli sono allogati sulla membrana nucleare. Raramente è dato d'incontrare forme a bastoncini. Trattasi di bastoncini corti (1—$1^1/_2$ μ) e tozzi, accompagnati costantemente da granuli.

Anche l'epitelio delle gittate che, partendo dall' epitelio criptale, si approfondano nel tessuto adenoideo, venendo, per lo più, ad occupare gli spazi interfollicolari, mostra caratteri identici. Come è noto, talora l'epitelio delle gittate in parola si dispone in modo del tutto caratteristico: s'incontra, cioè, un citoplasma comune tempestato di nuclei, si da avere a prima vista l'impressione di vere e proprie formazioni giganti polinucleate. Ad un esame un po' accurato è facile però intravedere, sebbene talora in modo indistinto, i limiti dei singoli elementi. Il protoplasma di questi elementi si presenta, per lo più infarcito ora di formazioni bastonciniformi ora di formazioni granulari. A volte i granuli acquistano dimensioni notevoli, apparendo sotto forma di corpicciuoli rotondi del diametro di 1 e per fino di 2—$2^1/_2$ μ.

Le perle epiteliali invece, che sono spesso alla dipendenza dell' epitelio criptale e che sono assai numerose nella Tonsilla palatina del cane, e gli

elementi epiteliali che fanno ad esse corona sono affatto privi di formazioni mitocondriali.

L'epitelio, dunque, delle cripte e delle gittate epiteliali da queste dipendenti si comporterebbe in modo quasi analogo a quello delle branchie delle larve di *Salamandra*, in cui recentissimamente Samssonow[1]), servendosi del metodo dell' Ematossilina ferrica modificato da Meves e del metodo Altmann-Schridde, mise in evidenza numerose formazioni mitocondriali, sotto forma di Condrioconti. L'unica differenza starebbe in ciò che mentre negli elementi epiteliali delle larve di *Salamandra* si osserva a preferenza la forma condriocontica, negli epiteli tonsillari prevale invece la forma mitocondrica propriamente detta.

Prendiamo ora in esame i singoli elementi del tessuto adenoideo, premettendo che avendo ottenuti reperti perfettamente identici nelle

Fig. III.

Plasmazellen.

tonsille normali ed ipertrofiche, ci serviremo anche qui d'un' unica descrizione.

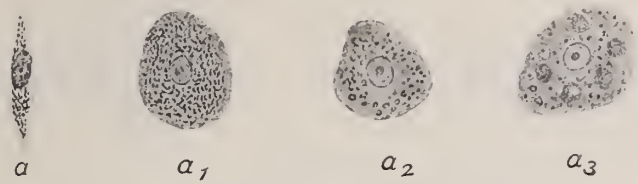
Relativamente ai linfociti dobbiamo notare che essi, dovunque si trovino, tanto negli spazi perifollicolari o nell' interno dei follicoli quanto in mezzo agli elementi epiteliali, in preparati trattati sia col metodo dei Condriosomi che con quello di Altmann-Schridde oppure col Galeotti-Ciaccio presentano le medesime formazioni. Trattasi di finissimi granuli, che assumono, per la speciale configurazione del protoplasma, una posizione costantemente perinucleare. A volte sono disposti a rosario attorno ad un polo del nucleo: altre volte si presentano fittamente stivati in quasi la metà dell' alone protoplasmatico: altre volte in fine occupano per

[1]) È importante qui notare che Samssonow si servì dello stesso materiale di studio, di cui s'era servito lo stesso Flemming nell' 82. I reperti ottenuti da quest' ultimo autore allo stato di freschezza sono del tutto identici a quelli messi in evidenza da Samssonow sia col metodo dei Condriosomi che con quello di Altmann. Onde Samssonow conclude (ed in ciò segue Meves) che non v'ha ragione di contrasto fra le due teorie: quella della Filarmasse di Flemming e quella granulare di Altmann ». . . ist der alte Gegensatz zwischen der Filar- und Granula-Theorie des Protoplasma hinfällig geworden; beiden Theorien liegt eine und dieselbe Substanz zugrunde, welche in den einen Zellen in Form von Fäden, in den andern in derjenigen von Körnern vorhanden ist.«

intero l'alone protoplasmatico. — Nei Mononucleati di media taglia, in cui il mantello protoplasmatico è alquanto più grande di quello dei piccoli linfociti, le formazioni mitocondriali si mostrano più abbondanti. Esse sotto forma di granuli minutissimi, hanno, come nei Linfociti, una posizione perinucleare. Costituiscono, però, attorno al nucleo delle duplici e tolora delle triplici filiere, più o meno irregolari. A volte formano ad un polo dell' elemento un vero cumolo granulare, costituente come una mezza luna addossata al nucleo dell' elemento in parola. Altre volte, in fine, si presentano in gruppetti isolati di 5—8.

Mentre nei Linfociti piccoli e nei Mononucleati di media taglia abbiamo notato un' uniforme regolarità sia nella distribuzione che nella forma dei Mitocondri, nei Linfoblasti, che, come dicemmo, costituiscono talora quasi da soli il centro germinativo dei follicoli delle Tonsille ipertrofiche, le

Fig. IV.



a, Elemento fisso dell connettivo; a_1, a_2, Macrofagi in riposo; a_3, Macrofago in fase d' attività digestiva.

formazioni mitocondriali si presentano sotto due aspetti fondamentali di granuli e di anelli. I granuli hanno dimensioni variabili da $^1/_2$ ad 1 μ è sono sparsi per tutta l'estensione del citoplasma[1]). Accanto ad essi possiamo trovare le sopra dette formazioni anulari, il cui diametro oscilla fra 1—2 μ. Queste ultime formazioni, dipendenti forse da una speciale iustaposizione di granuli mitocondriali, talora rappresentano le uniche forme che possono rinvenirsi in alcuni esemplari. Spesso però si accoppiano ai granuli.

È inoltre notevole il fatto che le formazioni mitocondriali lungi dall' essere la caratteristica dei Linfoblasti in riposo li accompagnano nelle fasi cariocinetiche più svariate, dalla profasi alla telefasi. È più

[1]) Evidentemente sono questi gli stessi granuli che Schridde nel 1907, servendosi del metodo Altmann-Schridde, mise in evidenza nei Linfoblasti delle ghiandole linfatiche. Secondo Schridde i detti granuli sarebbero disposti attorno al nucleo, e la loro presenza costituirebbe uno dei tanti caratteri differenziali fra Linfoblasti e Mieloblasti, i quali ultimi, sempre secondo Schridde, sarebbero del tutto privi di granuli.

notevole ancora che durante la divisione vadano incontro ad un aumento numerico veramente conspicuo.

Nella Profasi in cui, preparandosi la divisione cellulare, lo stroma nucleare cromatinico si accentua, facendosi più intensamente colorabile, il citoplasma, che d'ogni parte lo cinge, si presenta spesso come infarcito di granuli minutissimi. Assai abbondanti sono anche i granuli nelle figure di Piastra equatoriale. Accanto ai granuli si riscontra talora qualcuna delle forme anulari di sopra accennate.

Veramente caratteristica è poi la disposizione delle formazioni mitocondriali nella figura del Diaster della Metafasi. Qui i granuli, che spesso si presentano fittamente stivati fra di loro, si dispongono quasi costantemente nella porzione che diremo equatoriale del citoplasma, in quella porzione cioè posta tra le facce equatoriali delle anse cromatiche. Ho

Fig. V. Fig. VI.

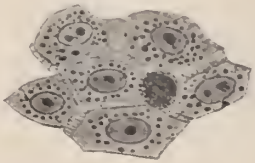


Fig. V. Elementi dello strato profondo dell' epitelio tonsillare.
Fig. VI. Elementi epiteliali di una cripta tonsillare. In mezzo a questi elementi si nota un Linfocito Koristka. Oc. 4 comp. ob.: $^1/_{15}$ imm. om.

detto quasi costantemente perchè, sebbene assai di rado, s'incontrano formazioni mitocondriali in forma di granuli nella porzione polare del Protoplasma. Quest' ultimo fatto rappresenta però un' eccezione.

Sono pure abbondanti i granuli anche quando s'inizia lo strozzamento cellulare, nel periodo dell' anafasi. Le formazioni mitocondriali in parola, quantunque si presentino anche in immediata vicinanza delle anse cromatiche, non arrivano mai a toccarle. Il fatto che i Mitocondri aumentano spesso considerevolmente durante tutte le fasi della divisione indiretta sta probabilmente ad indicare che ad essi spetta forse una funzione non indifferente, sebbene ancora non nota, nella riproduzione cellulare.

Assai importante è il modo di comportarsi dei Macrofagi, specie nelle Tonsille ipertrofiche, in cui, come è noto, si osserva un' esagerata attività fagocitica.

Negli elementi in parola, in qualunque stadio essi si trovino, si riscontrano costantemente numerose e svariate forme mitocondriali, che molto bene si mettono in evidenza col Galeotti modificato da Ciaccio.

Nei Macrofagi in riposo i Mitocondri si presentano sotto forma di granuli minuti isolati disposti a catenella; oppure, meno frequentemente, sotto forma di piccoli bastoncini. Nell' uno e nell' altro caso sono situati per lo più ai poli del nucleo.

Accanto a granuli minuti spesso s'incontrano granuli di dimensioni maggiori. I bastoncini che in generale sono corti e tozzi, a volte, descrivono diverse spire. Alcuni Macrofagi in riposo hanno il citoplasma completamente infarcito di quest' ultime caratteristiche forme condriocontiche.

Nei Macrofagi in attività digestiva, assai numerosi nelle Tonsille ipertrofiche, si rinvengono costantemente, spesso fra di loro accoppiate, le forme granulari, le bastonciniformi e talora quelle anulari, descritte a proposito dei Linfoblasti. In generale le formazioni in parola occupano tutta quella porzione di citoplasma risparmiata dai corpi fagocitati (polinucleati; nuclei di linfociti trasformati in tingible Körper etc.), di cui spesso lambiscono la periferia.

Anche gli elementi fissi sia normali che ipertrofici del tessuto perifollicolare offrono reperti talora del tutto identici a quelli dei Macrofagi in riposo, in cui ulteriormente possono tramutarsi.

Un ultimo elemento dobbiamo considerare: le Plasmazellen, che si presentano più che mai abbondanti nelle Tonsille ipertrofiche.

Le formazioni mitocondriali da noi dimostrate col metodo Galeotti-Ciaccio rispondono certamente alle granulazioni messe in evidenza nel 1905 da Schridde col metodo Altmann-Schridde, e da questo autore denominate »neutrali« (neutrale Körnelungen)[1]).

Le formazioni in parola si possono ottenere anche col metodo del' Ematossilina ferrica; ma in questo caso è assai difficile avere una giusta differenziazione.

I reperti da me ottenuti hanno grande analogia con quelli ottenuti e disegnati da Schridde. Trattasi anche qui di granuli ora isolati ora riuniti a gruppi di 6—20, della grandezza delle granulazioni degli eosinofili fino a quella di $1^1/_2\,\mu$ circa. I granuli finissimi prevalgono per numero sopra gli altri. Ma non possiamo affermare quanto afferma Schridde per i casi suoi, e cioè che le Plasmazellen più discoste dai vasi contengono

[1]) Schridde le chiama »neutrali« perche usando i comuni metodi di fissazione, non è riuscito a colorarle affatto nè coi colori basici nè cogli acidi; e le considera come analoghe alle granulazioni neutrofile dei Leucociti. La differenza fra le due specie di granulazioni consisterebbe nel fatto che mentre queste ultime si mettono bene in evidenza col Triacido di Ehrlich e col »Methilenblau, Eosin-Methode« quelle non si colorano affatto coi metodi in parola.

una percentuale di granuli maggiore di quelle ai vasi vicine. Il numero delle granulazioni a noi pare non vada soggetto ad alcuna legge. Dobbiamo inoltre aggiungere che noi siamo riusciti a dimostrarle nelle forme più svariate di Plasmazellen, in quasi tutti gli esemplari capitati nelle sezioni in esame.

Come si dispongono i granuli mitocondriali in parola?

A volte essi occupano esclusivamente l'alone perinucleare, caratteristico delle Plasmazellen, presentandosi qui fittamente stivati. Altre volte formano come una corona alla periferia del citoplasma, e quindi sono relativamente discosti dal nucleo. Altre volte in fine giacciono più o meno stipati in tutto l'ambito del protoplasma.

Accanto a questi tre tipi fondamentali esiste un gran numero di tipi intermedi, non classificabili. Così vi ha Plasmazellen con cumoli di minutissimi granuli (4—10) discosti fra di loro: Plasmazellen in cui la corona granulare periferica è ridotta a metà etc. In qualche elemento si vedono dei granuli costituire come delle corone attorno a dei veri vacuoli.

Nelle Plasmazellen in preda a degenerazione ialina di tutto o quasi tutto il citoplasma non ho mai incontrato granuli mitocondriali; solo in un esemplare in cui tutto il citoplasma era occupato da un voluminoso corpo ialino ho potuto notare due granuli periferici situati in punti diametralmente opposti, ed un bastoncino ricurvo in piena sostanza ialina. Granuli e bastoncino col loro colorito rosso scarlatto spiccavano nettamente sul fondo verdastro del corpo ialino in parola (metodo Galeotti-Ciaccio).

Le forme mitocondriali da noi rinvenute nelle Plasmazellen sono in modo preponderante rappresentate da granuli assai minuti: solo raramente accanto a questi si rinvengono dei granuli di dimensioni maggiori e qualche scarso bastoncino più o meno sottile.

I granuli minutamente descritti oltre che col metodo Galeotti-Ciaccio e coll' Altmann-Schridde possono essere messi benissimo in evidenza col metodo di Meves per i Condriosomi.

Mitocondri delle Vegetazioni adenoidi. Tanto nella forma diffusa che in quella follicolare noi abbiamo ottenuti reperti del tutto identici a quelli delle Tonsille palatine normali ed ipertrofiche. Per non ripeterci rimandiamo quindi a quanto abbiamo detto a proposito di questi ultimi tessuti.

* * *

Il fatto che le formazioni citoplasmatiche da noi descritte si rinvengono negli elementi più svariati dei tessuti da noi presi in esame, dagli elementi epiteliali, per fino da quelli in via di necrobiosi, agli elementi

fissi; il fatto di avere ottenuto anche nelle vegetazioni adenoidi i medesimi reperti che nelle tonsille palatine in genere; il fatto che i reperti delle tonsille normali sono del tutto identici a quelli delle tonsille ipertrofiche; e più specialmente il fatto che le formazioni dette si mettono bene in evidenza oltre che col metodo Galeotti-Ciaccio e con quello di Altmann-Schridde anche con quello dell' Ematossilina ferrica, preconizzata da Meves pei Mitocondri, ci rafforza sempre più nella credenza che le formazioni in parola lungi dal rappresentare il prodotto del metabolismo cellulare o d'una secrezione interna, rappresentino dei veri costituenti del citoplasma, dei veri Condriosomi nel senso di Meves.

I reperti da noi ottenuti non ci autorizzano però ad emettere alcun giudizio fondato sulla possibile funzione interna delle Tonsille palatine[1]).

Palermo 10 gennajo 1911.

Bibliografia.

Arnold. Zur Morphologie und Biologie der Zellen des Knochenmarks. Virchows Arch. Bd. CXL. 1895.

Benda. Weitere Mitteilungen über die Mitochondrien. Verhand. d. physiol. Ges. zu Berlin. Jahrg. 1898—99.

Ceconi. Münch. mediz. Woch. 1904. Nr. 29.

Ciaccio. Pathologica. Nr. 1. 1911.

Flemming. Zellsubstanz, Kern und Zellteilung. 1882.

—— Attraktionssphären und Zentralkörper in Gewebs- und Wanderzellen. Anat. Anz. 1891.

—— Über Teilung und Kernformen bei Leucocyten und über deren Attraktionssphären. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XXXVII. 1891.

Meves. Die Chondriokonten in ihrem Verhältnis zur Filarmasse Flemmings. Anat. Anz. Bd. XXXI. 1907.

[1]) L'unica funzione sempre sostenibile per gli organi dell' anello di Waldeyer in genere, e per la Tonsilla in specie, è quella linfo-poietica. L'analogia dei nostri reperti con quelli di Ciaccio (ghiandole linfantiche) la rendono sempre più probabile.

È però ancora possibile che la Tonsilla, come alcuni autori vogliono ammettere pel tessuto linfatico in genere, renda innocui i prodotti tossici del metabolismo cellulare (Pinocitosi di Gabritschewski). Quest' ultima funzione potrebbe essere probabilmente disimpegnata dai Macrofagi, che acquisterebbero così il significato di ghiandole unicellulari (Metchnikoff-Ciaccio).

I reperti che Leto ha avuto la fortuna di ottenere col metodo Galeotti su pezzi di Tonsilla fissati nella miscela di Flemming per la descrizione e per le figure di cui l'Autore correda il lavoro (V. Folia clinica, chimica et microscopica. Vol. II. fasc. VII. 1910.) non possono costituire la base istologica della fantastica ipotesi della cosi detta secrezione interna.

Meves. Die Chondriosomen als Träger erblicher Anlagen etc. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXII. 1908.

—— Zur Einigung zwischen Faden- und Granulalehre des Protoplasma. Beobachtungen an weißen Blutzellen. Arch. f. mikr. Anat. 1910.

Prenant. Les Mitochondries et l'Ergastoplasma. Journal de l'Anat. et d. la Physiol. 1910. Nr. 3.

Samssonow. Über die Beziehungen der Filarmasse Flemmings zu den Fäden und Körnern Altmanns nach Beobachtungen an Knorpel-, Bindegewebs- und Epidermiszellen. Arch. f. mikr. Anat. 1910.

Schridde. Beiträge zur Lehre von den Zellkörnelungen. Die Körnelungen der Plasmazellen. Anat. Hefte. Bd. XXVIII. 1905.

—— Die Körnelungen der Lymphocyten des Blutes. Münch. med. Woch. Jahrg. LII. Nr. 26. 1905.

—— Myeloblasten, Lymphoblasten und lymphoblastische Plasmazellen. Zieglers Beiträge z. path. Anat. Bd. XLI. 1907.

Zoia, L. et R. Memorie del R. Ist. lombardo. Classe di Sch. matemat. e natur. Vol. XVI. 1891.

The Spermatogenesis of the Opossum (Didelphys virginiana) with special reference to the Accessory Chromosome and the Chondriosomes.

By

H. E. Jordan.

(From the Anatomical Laboratory of the University of Virginia.)

With 2 figures in the text and plates I—III.

Contents.

	Page
I. Points of Primary Interest	42
II. Material and Methods	42
III. Spermatogonia — Diploid (duplex) Chromosome group	42
IV. Interstitial Cells	43
V. Primary Spermatocyte (Auxocyte) — Growth Period	43
a) Resting phase (interkinesis) — The chromatin (chromosome) nucleolus	43
b) Synizesis (contraction phase) and synapsis (bouquet stage)	44
c) Centrosphere (idiozome)	46
d) Late postsynapsis. Origin of chromidia (mitochondria; chondriosomes)	47
e) Prophase of first maturation division (reductional) — Haploid (simplex) chromosome group	49
f) Metakinesis	49
VI. Secondary (dimorphic) Spermatocytes	50
a) Resting phase	50
b) Second maturation division (equational) — Hemioid chromosome group	50
VII. Spermatids (dimorphic)	51
VIII. Sertoli Cells (Trophocytes)	52
IX. Formation of Spermatozoa	52
X. Summary of Results, Review of Literature and Discussion respecting	55
a) Accessory chromosome	55
b) Synizesis and synapsis (telosynapsis)	56
c) Chondriosomes (chromidia?) or mitochondria	58
d) Mature Spermatozoon	70
Foot-notes	76
Literature	78
Description of Illustrations	83

I. Points of Primary Interest.

This investigation aims to trace the spermatogenetic history of the opossum. The points of special interest involved concern, a) the presence of an unpaired idiochromosome (Wilson) or accessory chromosome of McClung (heterotropic chromosome, Montgomery = odd chromosome or monosome (allosome) or chromatin — (chromosome), nucleolus, Montgomery; or X-element, Wilson, of spermatogonia); b) the method of synapsis (telosynapsis); c) the presence of a hemioid group (result of double numerical reduction) of chromosomes in the second maturation division; d) the origin and fate of chromidia (Hertwig 1902, Goldschmidt 1904): mitochondria (Benda, 1897) or chondriosomes (Meves, 1907); and e) the formation and morphology of the spermatozoon.

A discussion of the central facts in the spermatogenetic process will follow a preliminary complete record of events.

II. Material and Methods.

The material includes 4 pairs of testes; 2 from young oppossum, 2 from large adults[1])*). The younger testes contain, besides Sertoli cells (trophocytes), only spermatogonia and presynaptic spermatocytes. The adult testes contain all the stages, with division figures and chondriosomes in abundance. Material was fixed in Zenker's fluid, Bouin's fluid, corrosive-acetic and in strong Flemming's fluid. Only the last three fluids gave satisfactory preservation. The iron-haematoxylin method of staining was used chiefly. Uncertainties of interpretation (mainly differentiation between plasmosome and chromosome nucleolus) were checked with sections stained with Auerbach's methyl-green-acid-fuchsin solution. Delafield's haematoxylin with eosin counterstain was also employed. Chondriosomes (chromidia) were studied both in stained (iron-haematoxylin) and unstained sections of Flemming-fixed material[2]). The study and illustrations were made by aid of $^1/_{12}$ oil immersion lens.

III. Spermatogonia. Diploid (duplex) Chromosome Group.

Only two generations of spermatogonia can be distinguished. The earlier generation (primary spermatogonia — seen more abundantly in the immature testes of the young individuals) appear similar, with respect to their nuclear organization, to the later generation (secondary spermatogonia — fig. 2). Both differ from the resting primary spermatocyte in that they have generally only one nucleolus (chromatic). The

*) See foot-notes pag. 76.

latter disappears prior to mitosis, leaving a plastin remnant, by process of extrusion of chromatic buds which disperse throughout the nuclear reticulum. There is here another instance favoring the position that the nucleolus functions in part as a store-house of chromatin, which contributes at mitosis to the formation of chromosomes. However, I can identify no structure at this early stage as the future accessory chromosome.

Metaphase plates of dividing spermatogonia contain 17 chromosomes. These vary somewhat in size, are rod-shaped and variously curved (figs. 1, 3, 4, 5 and 6). One usually appears somewhat larger than the rest, and may represent the monosome or future accessory chromosome. I am unable, though, to establish a direct continuity between a spermatogonial chromosome and the chromatin nucleolus of the primary spermatocyte, such as WILSON has so clearly demonstrated for *Lygaeus* (1905 b) and *Pyrrhocoris* (1909 a), DAVIS for *Dissosteira carolina* (1908) and as I was able to show in *Aplopus mayeri* (1907). In metakinesis the behavior of all the spermatogonial chromosomes appears similar.

IV. Interstitial Cells.

Equatorial plates of dividing young interstitial cells (from the adult testis) also yield a chromosome count of 17 (fig. 7). Further description of these interesting cells, which are here very abundant and very large and contain mitochondria, will be reserved for a separate paper.

V. Primary Spermatocyte (Auxocyte). Growth Period.

a) Resting phase (interkinesis). The chromatin (chromosome) nucleolus.

The resting primary spermatocyte (meiotic cell — MOORE and WALKER) is considerably smaller than the flat elongate spermatogonium. The nucleus contains several nucleoli (usually three, figs. 8, 9 and 10). With iron-haematoxylin all stain intensely. One, however is usually considerably larger and has a sharper contour (fig. 9). Moreover, this particular nucleolus is frequently located close to the nuclear wall at a point corresponding to the position of the centrosphere (idiozome, MEVES, fig. 10). However, this is not an invariable condition as is conspicuously the case in later stages. Possibly not sufficient time had elapsed in all cases for the attractive influence of the centrosphere to have produced the final effect in non-conforming cells. The inference seems justified

that this particular nucleolus is the future accessory chromosome. This is confirmed by the fact that after more prolonged staining in Auerbach's solution it alone becomes slightly green. Compared with typical chromosome-nucleoli, however, it is peculiar in that it does not stain readily nor intensely with specific chromatin stains, and that it grows smaller again (though probably never quite disappears) during presynapsis. Its irregular contour (fig. 11) at this stage indicates that its diminution in size is due to loss of chromatin. This nucleolus appears to present a condition of less early differentiation than is the case with more typical chromosome-nucleoli of such forms as *Pyrrhocoris* (Wilson, 09) and some of the orthoptera (e. g. *Aplopus mayeri*, Jordan, 1907). Its decrease in size may be only apparent, since it is frequently continuous with the spireme, in which case it is difficult to determine its exact limit proximally.

b) Synizesis (contraction phase) and synapsis ("bouquet stage"-Eisen).

After a brief resting stage (protobroch nucleus, Winiwarter) the primary spermatocyte enters upon a growth phase ("auxocyte") coincident with synizesis and synapsis (synaptenic spireme, Winiwarter). The increase in bulk is proximally two-fold, the daughter secondary spermatocytes (second generation of meiotic cells) having again approximately the original size of the mother spermatocytes. The relative bulk of cell and nucleus appears to remain fairly constant throughout this period, the nucleus being comparatively very large. The cytoplasm is of the granulo-reticular type.

The delicate achromatic reticulum of the resting nucleus changes to a delicate, apparently continuous, deeply-staining spireme (leptotenic nucleus, fig. 11). The small irregular chromatic nucleolus remains conspicuous. Here, as in later stages, plasmosomes may remain to confuse the picture, but the Auerbach's stain will always reveal the identity of the chromosome-nucleolus. The threads now shorten and become coarser, remaining apparently continuous (fig. 12). During synizesis the thread becomes arranged in loops converging at that pole of the nucleus corresponding to the position of the centrosphere. At this same point also the accessory chromosome (monosome, or heterochromosome) is invariably located. There appears to be only one legitimate inference that can be drawn from this appearance i. e. that the centrosphere (idiozome) exerts an attraction on the loops and the accessory chromosome, as first suggested by Schoenfeld (1901), and recently more fully demonstrated by Buchner (1910).

A similar condition of polarization of the synaptic loops is particularly well illustrated in the spermatocytes of certain cockroaches described by Morse (1909). The reason why the relationship between centrosphere and point of polarization can be so readily discerned in this material is due to the conspicuous character of the former. Possibly in all cases the polar orientation of the synizesis-mass is determined by the same influence, the latter remaining obscure on account of the inconspicuous character of the centrosphere.

Fig. 13 illustrates the important points respecting this stage: 1. the loops are numerous (approximately twice the number characteristic of postsynaptic stages, fig. 16), delicate and intensely chromatic; 2. their height is approximately one half the diameter of the nucleus; 3. two of the loops have opened up with their free ends in apposition. Fig. 14 illustrates a polar view of a similar stage showing more of the loops extended. The centrosphere here is located under the accessory chromosome in the center of the "bouquet". In fig. 15 two of the extended loops have united end-to-end (telosynapsis). All of the loops have become slightly coarser and stain more intensely.

A slightly later stage in this process is illustrated in fig. 16. Here most of the loops (about 9 — not all shown in illustration; other loops in other sections) are nearly the height of the nuclear diameter, and the summits of the loops are marked by more compact chromatic knobs: the point of union of two threads (extended loops). The inference appears justified that the numerical reduction here takes place by a process of end-to-end union, as first suggested by Stevens (1905, 1906). There is as yet no sign of a duplicity of these final loops such as Morse (1909) describes in *Blatta germanica*. True, the loops are coarser just as Morse describes them in *Blatta* in support of his position in favor of parasynapsis (Wilson), but this fact alone — and in the face of appearances indicating the opposite condition — does not necessarily indicate side by side union. The very slight indication of a split character of the chromosomes in later postsynapsis (diplotenic nucleus, fig. 20) need have no significance at all from the standpoint of reduction, but may simply be of the same nature as similar appearances in the early prophase of many dividing somatic cells (e. g. amphibia).

Moreover, the nuclear organization of the early postsynaptic phase leaves little doubt, I believe, as to the character of the reduction (i. e. by telosynapsis, Wilson) in this case. Here the scattering loops are again united into an apparently continuous moniliform spireme (fig. 17). In later stages the original loops draw apart (figs. 18, 19 and 20) but

remain connected end-to-end by delicate linin threads. At this stage the chromosomes — with the exception of the accessory — again stain faintly and appear coarser but less compact, and show an indication of a median split (figs. 20 and 21). It may be well to emphasize here that throughout synapsis and subsequently, the accessory chromosome retains its intense staining quality, its sharp contour (though it varies somewhat in size, sometimes appearing distinctly bipartite — occasionally appearances indicate even complete separation of two elements) and its characteristic position next the centrosphere. Moreover, it is frequently attached to one of the chromatic threads[3]).

But there are numerous cells of the stage of development illustrated in fig. 21 which contain still other non-reticular elements whose significance is uncertain. Besides the chromatin nucleolus (always at the idiozome pole of the nucleus) and the plasmosome (which has an apparently random position in the nucleus) there frequently appear one or several larger or smaller metachromatic masses. These frequently appear in process of fragmentation. They are tentatively interpreted as the earlier nuclear forerunners of the mitochondria.

c) Centrosphere (idiozome).

I have spoken of a "centrosphere" because in the material stained with iron-haematoxylin I am unable, except in rare instances (figs. 13 and 15), to demonstrate a distinct central granule within the homogeneous archoplasmic mass (attraction sphere; idiozome) which conforms to a centrosome. This may be due simply to its small size relative to the large sphere. However, in sections stained with Delafield's haematoxylin the pale sphere contains numerous dark granules. It is possible that one or several of these correspond to the centrosome of other forms. The centrosphere is conspicuously present at all stages from the resting primary spermatocyte (fig. 10) to the spermatid (fig. 59). Its later history will be considered in connection with the description of sperm-formation.

In the resting stages the centrosphere has a short oval form closely applied to the nuclear membrane (figs. 9, 10 and 11). During synapsis it becomes more elongated and conforms to the curvature of the spherical nucleus (figs. 13 to 17). In early prophase it draws away from the wall slightly and divides into two spheric or oval bodies (figs. 22 to 26). The maturation spindles (figs. 34 to 37) end in points marked apparently by a chromatic granule unaccompanied by a distinct sphere. It would seem

that this granule is really the centrosome now visible by reason of its conspicuous location. Around this granule the future sphere may again form and in it the centrosome again appear to vanish.

d) Late Postsynapsis. Origin of Chromidia (mitochondria; chondriosomes).

In late postsynapsis (or early prophase) the above described pale, mossy, bivalent chromosomes pass into a lightly-staining semireticular phase (figs. 22 to 24). This immediately precedes the typical prophase as indicated by the division of the centrosphere (figs. 23 and 24) and coincides with the time of origin of chromidial elements (mitochondria). These bodies appear to be true chromidia in the sense defined by HERTWIG (1902), GOLDSCHMIDT (1904) and POPOFF (1907) since they are nuclear products (probably transforming chromatin) passing from nucleus to cytoplasm. Their appearance is coincident with the loss in staining capacity of the prophase chromosomes — a significant fact from the standpoint of the question of origin. They are distinctly of a lipoid nature as revealed by their black color in unstained preparations of FLEMMING — fixed material. The degree of color is intensified by the iron-haematoxylin stain.

After passing out of the nucleus, the chromidia are grouped in single file for a while on the nuclear membrane (fig. 24). They appear compact at this stage, have a sharp contour and a spheric or short dumb-bell shape. It needs to be emphasized that during this process the chromosome-nucleolus (accessory chromosome) does not loose its intense staining quality, nor decrease in size, nor show any evidence of a loss of its material. Furthermore, the chromidia — contrary to the behavior of typical mitochondria described for various forms e. g. *Euchistus* (MONTGOMERY 1910); guinea-pig (DUESBERG 1910) — are not gathered about the centrosphere any more frequently than elsewhere in the cytoplasm (figs. 25 to 55). Chromidia are present in all succeeding stages up to the time of formation of the spiral filament of the middle-piece of the spermatozoon. Their fate in this connection will be discussed in detail in a later section.

Chromidia are produced anew in small amounts during the resting stage of the secondary spermatocyte and in the early spermatid stage. But whether these last formed (and their descendants), or persisting representatives of those earlier formed; or whether representatives of both sets (the more probable condition judging from analogous examples)

enter into the formation of the middle-piece, or what is the ultimate fate or function of all of the earlier formed chromidia, I am unable to elucidate. Morphologically the chromidia of the three stages mentioned are apparently identical. In corrosive-acetic fixed material the chromidia appear, but are less well marked.

It must be admitted that direct evidence for the nuclear origin of chondriosomes (mitochondria) here is meagre. What may be stated with absolute certainty, however, is that chromidia first appear in typical form in files and clumps external and closely applied to the nuclear wall (figs. 23 to 27). The apparently direct evidence for a passage from the nucleus is rendered uncertain by reason of the facts; 1. that only a relatively small number of cells (possibly abnormal, though with no other marks of abnormality) show a passage of granules from nucleus to cytoplasm — but it may possibly be due to a process of very brief duration; 2. the difficulty of differentiating between possible products of nuclear extrusion (e. g. basichromatin granules) and true chondriosomes; 3. somewhat greater irregularity of form and size of the original chromidia than the mitochondria of later stages; 4) karyosomes and net-knots of nucleus may resemble chondriosomes of cytoplasm, thus giving the misleading impression of nuclear origin.

The fact that mitochondria do not typically appear in nuclei (e. g. *Blatta*, *Cavia*, *Triton*, etc., Duesberg 1910) when stained with specific mitochondrial stains (Benda's stain) does not necessarily argue against a nuclear origin. The nuclear forerunners of cytoplasmic chondriosomes may not have reached a stage of chemical elaboration susceptible to some mitochondrial stains. A parallel of such a condition is that described by Meirowsky (1908) for the melanic granules of pigmented epidermis where the nuclear forerunners are colorless. While the question of origin of the mitochondria in this material cannot be absolutely definitely settled, I believe that the almost final evidence of a transit of granules from nucleoplasm to cytoplasm, coupled with the fact that the appearance of the mitochondria in the cytoplasm is coincident with a transient loss of staining capacity of the nuclear reticulum, argues cogently for a nuclear origin of chromidia (and mitochondria). It is just possible, moreover, that we are here actually dealing with two different elements: chromidia and mitochondria, one nuclear in origin, the other cytoplasmic. However, if the two are identical, or different stages in the elaboration of the same substance, as held by some cytologists (e. g. Heidenhain) the nuclear origin of chondriosomes is practically established. This point will be further discussed in section X, C.

e) Prophase of First Maturation Division (reductional). Haploid (simplex) Group of Chromosomes.

The typical prophase chromosomes consist of delicate rings, loops and rods. Typical tetrads are not present. Among the autosomes the spherical or oval monosome is conspicuous (figs. 25 to 28). In terms of a loop (the original form of the bivalent chromosome — figs. 15, 16 and 18 — apparently not materially modified during the postsynaptic phase) the rings are closed loops, and the pairs of rods are loops opened at the bends (the synaptic points). This point will be further discussed in the following sub-section.

The diploid number of chromosomes is 17. The haploid number is 9 (figs. 29 to 34). Metaphase plates of chromosomes are frequently in the form of a *U* with the large bipartite accessory chromosome near one end (figs. 29 to 32). This larger odd chromosome can be identified by its size and shape during all the successive stages of the first maturation mitosis (figs. 29 to 38). The prevailing form of the chromosomes of these equatorial plates is either oval or dumb-bell-or double-rod-shape. The ordinary chromosomes (autosomes) vary only slightly in size. The haploid number 9 is interpreted as due to a pairing of 16 of the diploid group plus one unpaired or accessory chromosome.

f) Metakinesis.

During metakinesis the larger unpaired bipartite odd chromosome passes undivided, and in advance of the ordinary chromosomes, to one pole (figs. 34 to 37). It can still be distinguished at the late anaphase by its larger size (fig. 38). Since a number of the chromosomes in the metaphase plates are distinctly of the form of paired rods, and some of the chromosomes on the spindle are of this form, and are simply drawn apart in their passage towards opposite poles, this is regarded as the type to which the ovals and dumb-bells may be reduced. If then these represent the original double threads of the prophase (simply less compact) — an inference which seems amply justified by appearances — i. e., the synaptic loops opened at the point of union, then this first division separates whole chromosomes and is a reducing division. The result of metakinesis is an anaphase figure with 9 chromosomes at one pole (8 autosomes + a monosome) and 8 at the other, giving rise from this point of view to a dimorphism of secondary spermatocytes.

VI. Secondary (dimorphic) Spermatocytes.

a) Resting Phase.

The dimorphism of the secondary spermatocytes is expressed in the resting stage (this appears to be omitted in some instances) by the presence in approximately one-half of a chromatin- (chromosome) nucleolus. The latter is usually close to the centrosphere (fig. 41). The nucleus contains also several, usually three, plasmosomes. Chromidia are again seen passing out of the nucleus into the cytoplasm (fig. 39). Mitochondria mass at one point on the nuclear membrane (figs. 39 and 40). Similarity in shape to the mitochondria of earlier stages indicates identity and simple persistence. Their characteristic clumping at one or several points, and close to the nuclear membrane, indicates an origin anew. However, they do not have the specific and uniform shape of the original chromidia of the primary spermatocytes. Again only their form, presence and position is clear. Partial nuclear origin is inferred from the presence of intra- and extra-nuclear basichromatin granules (fig. 39). Persistence is demonstrated by the fact of their presence in late anaphase of the first division (fig. 38).

b) Second Maturation Division (equational). Hemioid Chromosome Group.

Equatorial plates of second maturation spindles are of two types: one contains 4 chromosomes (figs. 42, 43 and 44): the other 5 chromosomes (figs. 46 to 52). Most of the chromosomes appear bipartite. In the plates of 5 chromosomes, one is usually larger (figs. 50 and 51). This is the undivided accessory. In metakinesis all the chromosomes behave similarly: i. e., there is apparently no lagging behind of the accessory as described for many forms (e. g. man, Guyer 1910; *Aplopus mayeri*, Jordan 1907). Anaphase figures vary in that some have 4 chromosomes at the poles (figs. 45 and 54), others have 5 chromosomes (figs. 48 and 53). Figs. 55 and 56 illustrate successively later telophase stages. There obtains here a second pairing of chromosomes such as Guyer has described for pigeon (1903), rooster (1909b), guinea-fowl (1909a) and man (1910), giving rise to a hemioid chromosome group. The 5 chromosome group is interpreted as due to a pairing of 8 of the chromosomes resulting from the first maturation division plus the unpaired accessory chromosome at one pole (daughter secondary spermatocyte); the 4 as the result of a pairing of the 8 chromosomes at the opposite pole.

Similarity of form between the chromosomes of the first and second metaphase plates (i. e. double rods) suggests a similar manner of division: accordingly a second reduction. When one recalls, however, that a resting stage (figs. 39 to 41) usually intervenes between the first and second maturation divisions, when the chromosomes pass through a reticular phase, the above conclusion is inadmisible; or rather, no definite conclusion respecting the character of the second division is justified. A double true reduction, suggested by the form of the chromosomes is contrary to our fundamental conceptions regarding the significance of chromosomes and need not, in view of the nature of the evidence, be seriously considered. Moreover, in the stage just preceding the brief resting phase of the spermatids (figs. 57, 58 and 59) there occurs a resolution of the 5 chromosomes into 9 and of the 4 into 8. This demonstrates that the true character of the second division is equational. The second numerical reduction involves a less close union apparently than the first, as a comparison of illustrations 29 and 43 will show. Again the fusion is sometimes incomplete to the extent of giving an occasional count of 6 chromosomes.

VII. Spermatids (dimorphic).

Accordingly, there results a dimorphism of spermatids, one type containing 9 chromosomes (8 autosomes plus 1 monosome), the other 8 (autosomes). If the demonstration can be made, as seems likely on grounds of analogy, that the female has 18 chromosomes there is here another case to which Wilson's (1906) formula for sex-determination, so widely applicable among the insects, will also apply. The only remaining point of interest in this connection is the fact that the accessory disappears with the ordinary chromosomes into the nuclear reticulum of the resting spermatid (figs. 60 and 61). In later stages the nucleus contains a conspicuous central plasmosome, but all trace of the accessory chromosome seems henceforth lost.

The accessory chromosome thus in the opossum seems to appear slightly later and to disappear slightly earlier at the beginning and the end of spermatogenesis respectively, than in many of the insects (e. g. orthoptera).

The occasional appearance of syncytial masses of spermatids (including 4 to 8 nuclei) such as Guyer (1909b) described also for the domestic chicken, may be noted. Probably no importance attaches to these products of atypical development. Due to their rarity here their origin or

fate was not determined. They probably arise as the result of nuclear multiplication unaccompanied by cytoplasmic fission (rather than fusion) and may eventually separate as described by Guyer for chicken — since no megalosperms were observed in my material.

VIII. Sertoli Cells (trophocytes).

When the spermatid has attained a development of about the stage represented in fig. 67, it attaches itself to a Sertoli cell. Usually 4 are attached to a cell. Sometimes, however, as many as 8 combine to form a single spermatoblast. Sertoli cells seem unusually abundant in the opossum. The spermatids undergo their later development attached to the trophocytes, and again free themselves at about the stage represented in fig. 81. The Sertoli cells are tall columnar cells, tapering distally, with broad basal portions containing large vesicular nuclei each with large central plasmosome.

The most significant fact regarding the Sertoli cells in this connection is the large quantity of deutoplasmic material they contain. This is in the form of larger and smaller spheres, stained deeply by the osmic acid of the Flemming's fluid. I have been unable to identify definitely characteristic mitochondria (due to the abundance of fat) in these cells, though they may be present in small quantity. The larger spherules of fat are found only in the basal portions of the cells. Centralwards the fat is more finely divided and stains less intensely, a condition exactly parallel to that recently described by Hanes (1909) for the testicle of the pig and certain other mammals.

The large amount of deutoplasmic material in the trophocytes undoubtedly furnishes the energy for the growth and metamorphosis of the spermatids into sperm, and probably also for the increase in the amount of chondriosomes in the spermatids.

IX. Formation of the Spermatozoa.

Following a brief resting phase during which the spermatid remains small (fig. 61) with small nucleus (with achromatic reticulum containing several karyosomes) and closely applied oblong centrosphere (idiozome) there ensues the first stage in the process of metamorphosis to a spermatozoon. This stage is characterized by enlargement of the nucleus, the disappearance of the karyosomes coincident with the appearance of a central

plasmosome, and the enlargement of the sphere (Nebenkern). All these elements continue to enlarge for a time (figs. 62 to 64) but the prime event is here the separation of a small plastin sphere (idiozome) from the still enlarging clear hyaline sphere (archoplasmic material — Nebenkern). The latter appears to overflow the nucleus and to indent it both inwards and downwards and the former wanders to the opposite pole (figs. 62 to 66). Meanwhile the enlarged cell has elongated, as also the nucleus. Coincident with these phenomena, there occurs an increase in the number of chondriosomes. The entire cell now seems packed with them (figs. 65 and 68). In cells lightly stained they appear like small vesicles; under deeper stain, they appear like granules and spheres of still smaller granules. It seems probable also that the larger clearer vesicles are in process of dissolution within the cytoplasm. Duesberg (1910) describes similar vesicular mitochondria in the guinea-pig spermatozoon of this stage of development.

The nucleus continues to elongate and narrow, and moves to the surface of the cell (figs. 69 to 70). Here, and in many instances earlier, two chromatic granules (centrosomes, centrioles) appear near the smaller sphere (idiozome). It seems probable that they have been liberated by the sphere. The fate of this sphere is apparently elongation (fig. 82) and ultimate fragmentation within the body of the developing spermatozoon (fig. 86). It probably does not contribute to the formation of the connecting piece since it may be entirely eliminated with the cast-off portion of the spermatid cytoplasm (fig. 78). The nucleus now curves on itself at a pole of the cell carrying the Nebenkern — the major portion of which now envelops the nucleus — at the forward end as an acrosome and takes a position approximately at right angles to its former position in the long axis of the cell. Meanwhile the centrosome takes its position on the inner surface of the curving contracting nucleus and near its centre. The nucleus still carries a portion of the Nebenkern (or "large sphere" at one pole as an acrosome. The "sphere" grows continually smaller (fig. 81) and may be the homologue of the acrosome of other forms. A section (longitudinal) of the elongate spermatid at this stage is illustrated in fig. 71. This represents a section through fig. 70 after the nucleus has become more compact and dipped downward and forward and rotated through an angle of approximately 90 degrees. Polar views of successively later stages of development are represented in illustrations 73 to 75. In figs. 71 and 72 the position of the centrosomes is clearly indicated.

It will be noted that only a portion of the cytoplasm of the original

cell is retained and that the former elongates at right angles to the head. Figs. 77 and 78 illustrate spermatozoa at this stage of development in side view. Figs. 67 and 78 show the double character of the centrosome. From one of these (the distal one apparently) the tail filament grows out. One centrosome clearly retains its position at the head of the filament as an end-knob but the fate of the other is uncertain. It probably wanders to the distal end of the middle piece, forming its non-mitochondrial portion — or possibly its sheath — but among the numerous mitochondria crowding this region it cannot be definitely identified.

Figs. 76 to 79 show later stages in the development of the head and body of the spermatozoon. The head (i. e. compact nucleus) is split, now having a U-shape, apparently solid toward the bend (fig. 76). Mitochondria are abundantly present in the body. The split in the head seems due to an in-pushing and down-pushing of the Nebenkern. Here it remains for a time (figs. 81, 83 and 85) but ultimately seems to disappear leaving a V-shaped space in the anterior ventral portion of the head and body, its upper margin formed laterally by the the limits of the U-shaped head and dorsally by the mass of cytoplasm bearing the middle piece. The main portion of the Nebenkern envelops the head (figs. 77 and 78) and delimits that portion of the cytoplasm which is to form the "body". The form of the head and body of the spermatozoon at this stage, and subsequently, consequently resembles somewhat a funnel (or lily) with a V-shaped space in the anterior ventral portion. It remains to state simply that mitochondria (chondriosomes) wander inward and take a position about the axial filament to form the spiral filament of the middle-piece (figs. 78 to 86). The middle-piece seems enclosed by a membrane and the whole is contained in a thick mass of protoplasm which thins out ventrally and is continuous to the V-shaped interruption. The cephalic portion of the spermatozoon thus consists of a funnel-shaped structure, the margins of which are formed by the U-shaped head (nucleus open in front) and the dorsal wall of which (cytoplasmic) is thickened to contain the middle-piece. The constricted tubular portion of the "funnel" is represented by a very long tail consisting of cytoplasm and axial filament. Nowhere in my material have I seen the paired spermatozoa described by Selenka (1887) for the vas deferens of the oppossum. The conjugation of the spermatozoa would consequently seem to be a secondary matter. Ballowitz (1895) described such secondary conjugation of the primarily separate spermatozoon also in beetles (Dytiscidae) where even three or more may unite to form an independent "spermatozeugma"[4]).

X. Summary of Results, Review of Literature and Discussion respecting:

a) Accessory Chromosome.

Summary. In the nuclear cycle of the male germ-cells of the opossum an odd or unpaired (differential) chromosome appears comparable in form and behavior to the heterotropic or accessory chromosome of the Tracheata. It is probably the larger member of the spermatogonial (duplex) group of 17. It persists as a chromatin- (chromosome) nucleolus in the resting phase of the primary spermatocyte; is conspicuously present throughout synapsis and among the prophase chromosomes of the first division; is recognizable as the large bipartite member of the reduced (simplex) chromosome group; passes undivided and in advance of the ordinary chromosomes to the pole; persists as a chromatin nucleolus in the brief resting stage of the secondary spermatocyte; divides like the ordinary chromosomes in the second maturation mitosis; and then determines a dimorphism of spermatids, one type with 5 chromosomes, the other with 4 (which resolve into 9 and 8 respectively); and is lost (permanently for the spermatogenic process) in the reticular phase of the resting spermatid.

Literature. The accompanying bibliography includes numerous papers in which the literature of the accessory chromosome in invertebrates is critically and extensively reviewed. Only Guyer has thus far reported accessory chromosomes for male vertebrates including pigeon (1903), rooster (1909b — probably triple), guinea fowl (1909a), man (1910 — double) and rat (1910). It seems probable that the analogue of the accessory chromosome of insects may be found in a wide range of vertebrates[5]). Recently such an element has been reported by Winiwarter and Saintmont (1909) in the ovary of the cat.

Discussion. One of the most interesting phenomena in the spermatohistogenesis of the opossum is the occurrence of a double numerical reduction in the secondary spermatocytes (hemioid group). A similar phenomenon has already been described by von Bardeleben (1898) for man. A similar condition has been reported by Guyer in pigeon (1903), rooster (1909a), guinea-fowl (1909b) and man (1910). The meaning of this phenomenon is obscure. One might indulge in endless speculation and spin various theories, all of which seem gratuitous since, due to the resting phase ordinarily intervening between the first and second maturation mitosis, we have no knowledge as to the value, in terms of univalent chromosomes, of the bipartite elements of the hemioid group. It seems more probable that the bipartite character simply foreshadows

the plane of future fission, possibly dividing pairs (except accessory) of univalent chromosomes equationally, which chromosomes subsequently disjoin to form the original groups of 9 and 8 chromosomes respectively. It seems wiser to await the probable discovery of a more favorable material for the elucidation of this phenomenon than to attempt to use superficial facts as arguments for or against the various theories respecting the significance of the chromosomes. As regards the question of the genetic continuity, or even the permanence, of the chromosomes (individuality theory — Boveri) the facts here argue more strongly for, than against, the hypothesis (since 9 and 8 reappear ultimately).

The identity in number and behavior (practically) between the chromosomes of opossum and those of the domestic guinea (Guyer, 1909b — probably also those of cock — Guyer, 1909a) is very striking.

In the case of *Blatta*, Wassilieff (1907) and in that of *Gryllus*, Buchner (1909) believe that the accessory chromosome contributes to the formation of the mitochondria. Goldschmidt (1907) assigns a nutritive significance to the accessory chromosome.

b) Synizesis and synapsis (telosynapsis).

Summary. Delicate chromatic loops are polarized on the idiozome in synizesis. Subsequently these loops open up and conjugate in pairs at their free ends. A second set of polarized loops is thus formed. The latter are considerably coarser and only about half as numerous as the synizesis loops. During this process, then, the first numerical reduction of the diploid group of chromosomes occurs, and apparently by telosynapsis. The fact that both in synizesis and synapsis the loops are moniliform is further proof of an end-to-end conjugation. The character of the prophase chromosomes indicates that subsequently the limbs of the loops come into close apposition and simulate a condition of parasynapsis. Indeed, the evidence here points to a side-by-side union following a primary end-to-end union. If the essence of the synapsis is intermingling of the fundamental elements of the chromosomes, then this double method of conjugation would seem more effective in producing this result than either telo- or para-synapsis alone.

Literature. The literature of the subject of synizesis and synapsis is so closely bound up with that of gametogenesis and chromosome studies in general, that it seems impracticable here to attempt to extract the one from the other. It may suffice simply to note that by far the greater number of investigators in this field take the position that synizesis is a normal process. A minority contend that it is a fixation artefact. As

to synapsis, sensu stricto, the various workers take the opposing positions: that it is an end-to-end, and a side-by-side union of chromosomes respectively.

Discussion. The abundance of perfectly preserved cells with nuclei in which the chromatin is in synizesis leaves no question, I believe, as to the normal character of this phenomenon in spermatogenesis. The accumulation of much conforming evidence respecting synizesis by many workers in gametogenesis, and especially the testimony of Sargant (1897), Overton (1905) and Wilson (1909) that similar appearances present themselves in living cells, invalidates the contention of a number of cytologists notably, Mc Clung (1902), Schaffner (1907), Guignard (1899), Janssens (1905), Miyake (1905), Davis (1908), and Duesberg (1908) that it is an artefact. Moreover, much of the evidence presented by the last set of men may simply indicate that synizesis is not an absolutely constant process in gametogenesis. Synizesis need not necessarily be constant in order that it may be normal (i. e.; not a fixation artefact) when it does appear[6]).

It seems altogether probable that both telosynapsis and parasynapsis occur in different forms. As yet, there appears no evidence of a strict limitation of one or the other to certain groups of animals or plants. The Schreiner's (1906) believe that parasynapsis is the general rule in the reduction process. Goldschmidt (1908) holds the opposite view, and points out the fact that a di-spireme occours also in gametogenesis of parthenogenetic forms and in certain somatic cells in early prophase, where there is no question of a synapsis. Buchner (1910) also argues cogently for telosynapsis as characteristic of the orthoptera.

The character of the early prophase chromosomes (double threads; later, loops and paired threads) suggests that perhaps no sharp distinction really exists between the end-to-end and side-by-side method of conjugation. Here the one appears to follow the other. The reduction takes place first by end-to-end conjugation. Later on, the limbs of the loops approximate and fuse more or less completely. In this condition the bivalent chromosome is divided in metakinesis. Where parasynapsis has been described, an end-to-end fusion must still occur at the ends of the threads. Thus in either event the side-by-side union (primary or secondary) is perhaps the ultimate rule in reduction; and the di-spireme condition of the postsynaptic thread and the prophase thread of somatic mitosis may have no other elements in common. Moreover, the fusion of the conjugants in synapsis may be so complete, as apparently to vitiate all individuality (at least visible) as the work of Bonnevie (1907 and

1908), Farmer and Moore (1904), Miyake (1905), Cardiff (1906), and Morse (1909), and others indicates in the judgement of these investigators. In this event one can save the idea of chromosome individuality by regarding the linin substructure as the essential constituent of the chromosome as some workers are inclined to do (e. g. Nichols, 1910), or by interpreting chromosomes as essentially "enzyme masses" as Montgomery (1910) suggests on the basis of strongly indicative evidence in *Euchistus*.

The strongest evidence presented by Morse's material in favor of parasynapsis he fails to mention, viz: the fact, as illustrated in his fig. 11, that the loops in synizesis are as tall as the loops in synapsis. This phenomenon greatly strengthens his other arguments for parasynapsis: i. e. thicker loops, double character of loops and half number of loops in later stage (synapsis), which by themselves furnish little support as shown above. In this whole field, the question seems to be much less one of observation than of interpretation; and the interpretation depends largely upon the position one has taken with respect to the nature and significance of the chromosomes. The observations on this portion of the germ-cells of the opossum, indicates, superficially at least, that the original chromosomes, as respects their chromatin constituent, have lost all trace of their assumed previous individuality.

c) Chondriosomes (Chromidia) or Mitochondria.

Summary. Typical chondriosomes first appear abundantly in early postsynaptic stages of the growth period. In form they are mostly larger and smaller spherules and irregular granules. Some have the appearance of short rods (chondrioconts — Duesberg) frequently in pairs, possibly the result of fission. The chondriosomes or mitochondria assume no definite relationship, either at origin or during their future disposition, with respect to the idiozome, such as has been so frequently described for invertebrates and some vertebrates (e. g. triton, rat, guinea-pig — Duesberg 1910). They are usually gathered into larger and smaller groups scattered apparently promiscuously in the cytoplasm, but frequently close to the nuclear wall. This typical individual form and mode of grouping, and disposition with respect to the nucleus, is maintained throughout the future steps of spermatogenesis. The only exception is in the metamorphosing spermatids where three distinct types with intermediate forms occur: spheres, vesicles and granules. The last are much more abundant in the exoplasmic region of the cells; the spheres and vesicles in the endoplasmic region. Depth of staining

determines the relative numerical abundance of spheres and vesicles. Only the spheres and granules appear to contribute to the formation of the spiral filament of the intermediate-piece of the spermatozoon. The vesicles probably represent liquifying spheres and granules and disappear within the cytoplasm forming the flagellum. Some are cast out with a discarded portion of the cell.

During the maturation mitoses, the mitochondria seem to be approximately equally distributed to the daughter cells. There appears to be no coincident fission[7]) of individual rods or granules such as DUESBERG (1910) describes for chick and FAURÉ-FRÉMIET (1910) for certain protozoa; nor is there ever an appearance of filaments (chondriomites) until the spiral filament is formed. One gets the impression of a slight augmentation in the number of mitochondria, but only during the resting stage of the secondary spermatocytes is any tangible clue given as to the source of the increase. Here a few basophile granules (morphologically and tinctorially similar to the mitochondria) seem to pass from nucleus to cytoplasm; likewise in the early spermatid stage. This observation however, has significance only if we can establish the primary nuclear origin of mitochondria (as chromidia), a point which will be further discussed below.

Both spermatogonia and Sertoli cells contain a very few granules very similar to the later mitochondria. Both of these types of cells contain considerable deutoplasm. It is very difficult here to distinguish between the fine spherules of fat and the mitochondria. In unstained preparations of FLEMMING-fixed material, however, fat is deep black; the mitochondria, grayish (metallic) black. On the basis of this differentiation and on morphological grounds, I believe that we are dealing with both a few mitochondria and much deutoplasm in the spermatogonia and the Sertoli cells.

But my preparations leave no doubt respecting the absence of mitochondria during the early growth period of the primary spermatocytes. For this generation of cells they first appear during the later growth period — and during a period coincident with a transitory achromatic reticular phase of the nucleus. This observation is the more significant in view of the fact that both within and without the nuclear wall are similar darker-staining bodies. Subsequently such bodies (now deeply-staining, sharply-contoured spheres and dumb-bells) are aligned on the nuclear membrane externally. All the evidence here points to a nuclear origin of mitochondria i. e. they appear to be transformed chromidia. The bearing of this on the several theories regarding the origin and function of mitochondria will be pointed out below.

To recapitulate briefly, the mitochondrial elements which contribute to the formation of the spiral filament are traced back to the late growth period of the primary spermatocyte, where they appear to arise as true chromidia. A few may possibly trace their ancestry to still earlier spermatogonial cells, and a small quota may have been added during the resting stage of the secondary spermatocyte and spermatid.

Literature. Meves in his classic memoir »Über den von la Valette St. George entdeckten Nebenkern (Mitochondrien-Körper) der Samenzellen« gives a very complete critical review of the literature respecting chondriosomes up to 1900. More recently Dobell (1908) has written at considerable length on chromidia with reference more especially to their bearing on the binuclearity hypothesis (Kern-plasma-relation hypothesis) of Hertwig and Goldschmidt. Heidenhain (1907) in »Plasma und Zelle« also gives a masterly brief summary of the subject of mitochondria (p. 410—421). The literature of the subject since 1900 has been most ably and completely reviewed by Duesberg (1910). For complete bibliographies respecting chromidia and mitochondria the reader is referred to the above mentioned works. The more important still more recent papers on this subject are those of Meves (1910), Samssonow (1910), Rubaschkin (1910), Tschaschin (1910) and Heidenhain (»Plasma und Zelle«, Part. 2, p. 1079—1104, 1911).

Discussion. Mitochondria were first specifically described by Benda in 1897 in the spermatogenetic cells of the mouse. He found them abundantly present in all the generations of cells (also the Sertoli cells) and traced them into the spiral filament of the middle-piece. Cytoplasmic bodies apparently very similar to the mitochondria described by Benda had been noted by a number of earlier writers. Conspicuous among these was von Brunn (hence "bodies of von Brunn" used synonymously), who had observed them in seminal epithelium teased in serum and salt-solution. Recently Samssonow (1910) and Meves (1910) have suggested their identity with the bioblasts (also nematoblasts and vegetativen Fäden) of Altmann (1893) and thus ultimately with the intrafilar cytomicrosomes (of van Beneden). Such identity was still earlier urged in the papers of the Zoja Bros. (1891). Benda subsequently discovered mitochondria in the seminal epithelium of many vertebrates and invertebrates. Frequently the granules become aligned and form filaments, then known as chondriomites. The latter are regarded by Heidenhain (1907) as identical with his pseudochromosomes and the chromidial threads of Goldschmidt (1904). The more important extension of Benda's discovery was made by Meves. Recently these bodies have received

much attention from French Belgian (notably Duesberg, Lams, and Samssonow), German (Meves, Hertwig, Goldschmidt, Popoff, and Buchner) and several Russian workers (Rubaschkin and Tschaschin).

In 1902 Hertwig introduced the term "chromidial-net" for extra-nuclear chromatin in *Actinospherium*. Its real meaning was quite obscure. In 1904, Goldschmidt described certain curious chromatin strands in muscle cells of *Ascaris*. These he called "chromidial apparatus" and described them as extruded from the nucleus. In 1907, Popoff described "chromidia" in the spermatocyte and ovocyte of gasteropods (*Paludina vivipara*). These he interpreted as chromatin granules extruded from the nucleus. On the basis of his later observations on *Helix* he states his conclusion "that the structures described by various authors under the names of mitochondria, pseudo-chromosomes, archoplasm, ergastoplasm, Nebenkern, idiozome (only in certain cases) and idiozome remains, are referable to different stages of one and the same developmental series of chromidia" (quoted from Dobell). To say the least, this list is probably too inclusive. Dobell points out that the Nebenkern is frequently an attraction sphere. It is also doubtful whether archoplasm and ergastoplasm (any more than myofibrillae) and idiozome (in many cases) should be listed under "mitochondria". Wassilieff (1907) also describes "superfluous chromatin" cast out of the nucleus in the spermatocytes of *Blatta germanica* and designates the same as chromidia and identifies it with mitochondria. It appears then that the chromidia hypothesis of Richard Hertwig (1902) took origin in protozoology, and received its chief stimulus to growth from the hypothesis of the binuclear nature of cells, so ably advocated by Goldschmidt. The mitochondrial hypothesis, on the other hand, took its origin in the field of gametogenetic cytology. Now that chromidia and mitochondria have become identified, the main discussion centers upon the question of the source of origin of these bodies. This involves attack and counter-attack on the several theories constructed by the rival schools on the basis of their supposed origin and fate. A nuclear origin is strenuously maintained by Hertwig, Goldschmidt and their students, and the theory of Kern-plasma-relation ably defended. A cytoplasmic origin is just as strongly defended by Meves, Duesberg and their students, and the hereditary value of cytoplasm (as opposed to chromatin) ably urged. Duesberg denies identity between mitochondria as defined by him (integral parts of cytoplasm) and the chromidia of Goldschmidt (strictly defined as nuclear extrusions).

Before stating the views in full of these two rival schools and their adherents it may be well to give a list of the structures now generally

included under the general term of mitochondria: Plastidule (Maggi); bodies of v. Brunn (v. Brunn 1884); mitosome, (Platner 1889); granula (cytomicrosome?), bioblast (Altmann 1893); mitochondria (granules — Benda 1897); chondriomites (filaments — Benda 1897); chondriosome (granule or thread — Meves 1904); chondriocont (short rod or thread — Meves 1907); chondriome (rod — Duesberg 1909); pseudochromosome (Heidenhain 1900); chromidial-net (Hertwig 1902); chromidium and chromidial apparatus (Goldschmidt 1904); spheroplast (Fauré-Frémiet 1909); histomeres (Heidenhain 1911); chromidial bodies or elements taking part in the vegetative functions of the cell = tropho-chromidia (Mesnil 1905), somato-chromidia (Schaudinn 1905); chromidia taking part in forming gametes = sporetia (Goldschmidt 1904), idiochromidia (Mesnil 1905), gameto-chromidia (Schaudinn 1905). "Chondriosome" and "mitochondria" are now more commonly used as the general terms. Heidenhain (1911) regards the former as the "class name"[8]).

Meves (1907) believes that the chondriosomes compose the material substratum underlying the differentiation processes i. e. different fibril structures: protoplasmic fibrils of epidermal cells, myofibrils, neurofibrils, connective tissue fibrils. He regards them as undifferentiated structures (typically rod — form) which undergo varied chemical alterations in primary transformation into neurofibrils etc. A chemical change is inferred from the fact that the various types of fibrils are not stained by the same dye (Benda's stain) which discloses the chondriosomes. The mitochondrial origin of various cell-fibrils, notably myofibrils, is well established on the basis of numerous works, among which may be mentioned especially those of Meves and Duesberg on the chick. On the other hand, Scott (1899) and also Dolly (1910) have described the tigroid substance (basichromatin — Scott) of nerve cells as arising from the nucleus in the shape of chromidia. The single fact that Nissl's granules are described as chromidia having a nuclear origin and neurofibrillae as mitochondria having a cytoplasmic origin, if both conclusions are well established, indicates that chromidia and mitochondria are after all distinct and separate substances and that the discussion of the origin of these bodies (as identical things) is quite gratuitous.

According to Meves (1908) the mitochondria represent a primitive and hereditary substance of the cytoplasm. He concludes (1910) "that they are present not only in the male and female germ cells, but also in embryonal cells, and that they are the Anlagen-substances for the production of the most varied differentiations which occur during the process of cytogenesis". He agrees with Benda (1903) that they take part

in fecundation, i. e. that the chondriosomes of the embryonal cells are in part paternal and in part maternal. He and Duesberg (1910) have attempted to prove that in mammals the male mitochondria retain for a time their morphological individuality and contrast with, and are distinguishable among, the female mitochondria. He and Samssonow (1910) have made the observation that the mitochondria are identical with the bioblasts of Altmann. In the fertilized egg of *Ascaris*, Meves claims to be able to distinguish for a time the larger male mitochondria among the small female mitochondria. Both are regarded as carriers of heritable Anlagen.

Rubaschkin (1910) notes that the primitive structure of mitochondria is granular, the secondary or differentiated filar. In a study of the germ-cells of birds (chick), Tschaschin tries to show that this is a distinguishing characteristic between the primitive sex cells and the somatic cells. This can not be a universal distinction, however, since in many invertebrates and even in some vertebrates (e. g. amphibia) the sex cells contain filamentous mitochondria. Tschaschin notes also that in his unstained preparations of Flemming-fixed material, the chondriosomes are not discernable, while the yolk granules are stained black. This reaction to osmic acid he employed as a differential characteristic between chondriosomes and yolk granules. This may be true for his material, but it certainly is not universall true (c. f. Regaud 1909, and Fauré-Frémiet 1909). My own experience is absolutely contrary to this finding. Mitochondria are very conspicuous (grayish-black) in the unstained Flemming-fixed material of the opossum. Nor do any new structures appear in the stained preparation (iron-haematoxylin, as employed by Tschaschin). The color of the mitochondria is simply intensified by the iron-haematoxylin. Since I am able to trace these same bodies into the composition of the spiral filament they are undoubtedly mitochondria. Moreover, numerous workers — among others, Fauré-Frémiet (1910), Russo (1910), Ciaccio (1910) and Heidenhain (1911) — have remarked on the "lipoid nature" of these bodies. Tschaschin's method of differentiating between yolk-granules and chondriosomes seems of very doubtful value and limited application. More will be said respecting the staining quality of the granules below.

On the basis of his observations on *Euchistus* where the mitochondria are said to be formed about the idiozome in the early growth period of the primary spermatocyte, Montgomery proposes as a working hypothesis that those cells become germ-cells which get little or no mitochondria.

The theory of Meves that the mitochondria are bearers of hereditary qualities (in somewhat the sense that the chromosomes are regarded as such vehicles by Boveri, Wilson and their students) has been most extensively developed by Duesberg. Moreover, he has given much attention to the matter of contesting the validity of the position of the "Munich School" to the effect that chromidia (mitochondria) arise from the nucleus. It remains to define Duesberg's position and to estimate his objection to the nuclear origin of mitochondria as advocated by Hertwig, Goldschmidt and their students, with whose opinion my observations on the spermatogenesis of the opossum lead me to agree.

Duesberg combats the idea of a strict cytoplasmic, as well as a nuclear, origin of chondriosomes. He holds that they are not formed from the cytoplasm of neuroblasts and myoblasts and fibroblasts, but that the fully formed indifferent chondriosomes simply here differentiate into neurofibrils, myofibrils, etc. 'que ces chondriosomes sont en relation de continuité direct avec les chondriosomes des états antérieurs» p. 121. According to Duesberg the various sorts of fibrils are "the product of an indifferent material, present in all embryonic cells, and capable of specific modifications in the different tissues" p. 121. On the basis of his observations on the sexual cells of the bee and the rabbit, he shows that the chondriosomes are not a product of cytoplasmic differentiation of the somatic cells but that they are derivatives of the germ-cells. In the rabbit he was able to follow the successive steps in the transformation of the mitochondrial granulations of the unfecundated egg through the fertilization and segmentation stages; thence as short rods to the 5th day, as "chondrioconts allongés et grêles" to the 8th day, and then through the final differentiation processes into neurofibrillae and myofibrillae. The notion of the "continuity of the chondriosomes" is in direct opposition to the discontinuity theory of Goldschmidt (nuclear origin) as also with the theory of their cytoplasmic origin. Chondriosomes form an integral part of the protoplasm of the cell. From the cytological point of view their origin is like that of the nucleus or the remainder of the cell; "tout chondriosome provient d'un chondriosome antérieur" p. 122.

Goldschmidt claims an identity between chromidia and mitochondria. Consequently the question for him remains as to whether they are nuclear in origin or constituent parts of cytoplasm. The theory that they originate in the cytoplasm by a process of transformation of the protoplasm is very closely akin to that which maintains their nuclear source. For a cytoplasmic origin by differentiation of protoplasm would occur

under the influence (if not as parts) of the nucleus. Duesberg has drawn the line sharply and states the matter unqualifiedly: mitochondria either arise in the cell during the process of growth or they have always been there. Duesberg does not admit that Goldschmidt has demonstrated the nuclear origin of his "chromidial net", nor thinks that he has established the identity between that body and mitochondria. He points out, moreover, that in his recent work (1909) Goldschmidt has yielded the following important points: 1) that the chondriosomes may react to certain stains differently from chromatin; 2) chromidial-formation is not limited to the synapsis phase; he now recognizes chromidia in spermatogonia; 3) ability of chromidia to multiply in the cytoplasm; 4) recognizes the correctness of Meves' and Duesberg's observations with respect to the formation of neuro- and myofibrils.

The difference becomes narrowed down to a question of first origin, viz.: Do chromidia arise from chromatin material of the nucleus, or are they integral parts of the cytoplasm transmitted from cell to cell and from parent to offspring? Vejdovsky (1907) has interpreted the chromidial-nets described by Goldschmidt in the somatic cells of *Ascaris* as fixation artifacts, i. e. greatly altered and torn threads of the normally filar framework of *Ascaris* cells. Bilék (1909) has still further developed this idea and illustrates appearances in the cells produced by violent fixing reagents very similar to the chromidial-nets of Goldschmidt. In view of the widespread appearance of this structure in well fixed material of very different origin, however, the results of Vejdovsky and Bilék have only a very superficial value and only a historical interest in this connection.

The observations of many workers upon chondriosomes of the germ-cells of vertebrates have shown that the granular form of the mitochondria seems to be the rule among mammals. In lower vertebrates (e. g. amphibia) and invertebrates (e. g. *Euchistus*) they may be filamentous. Moreover, in the spermatids of mammals the chondriosomes do not condense into a Nebenkern (as in insects) but remain separate until they fuse into the spiral filament.

In the chick Duesberg (1909) has described the multiplication of chondriosomes by transverse contriction (fission). Similar division phenomena have been described by Giglio-Tos and Granata (1908) for *Pamphagus*, and by Fauré-Frémiet for a number of protozoa. The latter investigator also cannot accept the hypothesis of a nuclear origin in the protozoa studied. Apropos staining quality, he reports that the mitochondria of protozoa (*Strobilidium gyrans*) may be colored by osmic

acid. Alcohol, ether, and chloroform may alter the mitochondria but do not destroy them. Chemically he regards them as consisting of an albuminous substratum which contains lipoid bodies. They are also supposed to be separated from the more fluid hyaloplasm by a lipoid pellicle. Fauré-Frémiet studied also the germ-cells of certain insects (*Pyrrhocoris*, *Forficula*, *Apis*, etc.) and reports that their mitochondria are also insoluble in acetone, alcohol, ether and chloroform. But after the action of these solvents for fat, their affinity for osmic acid is considerably diminished (p. 165) and certain color reactions no longer result as readily or at all. He concludes that only the combination into which the fatty acids enter present all the histochemical characteristics of mitochondria. Regaud also classifies the mitochondria in the seminal epithelium of the rat among the lipoids or lipoproteids but describes them as soluble in alcohol. Likewise Nageotte was unable to detect mitochondria in nerve cells after treatment with alcohol.

To return to the question and theories of origin: The theory of mitochondrial continuity proposed by Altmann, Benda and Meves, and developed by the latter and by Duesberg, is very attractive; and it appears to rest upon considerable cytological evidence. On the other hand, the nuclear origin of chromidia (which structures, in common with most workers in the field, I shall consider identical with mitochondria) seems equally well supported by equally forceful cytological evidence.

It remains to describe and interpret conditions in the opossum with respect to the chromidia (mitochondria) in the light of the two opposing theories above outlined. As already stated, the evidence in the opossum points directly to a nuclear origin of the mitochondria. Before detailing this evidence, however, it seems best briefly to consider Duesberg's objections to the evidence offered by several workers in support of this view, notably Goldschmidt (1904—1909), Wassilieff (1909), Popoff (1909) and Buchner (1907).

A number of workers have noted the appearance of mitochondria during the growth period of the primary spermatocyte. Thus Montgomery (1910) in *Euchistus* (he subscribes to a nuclear origin here); Morse (1909) in *Blatta germanica*; Buchner (1907) in *Oedipoda*, *Gryllus* and other orthoptera, where he believes that the accessory chromosome contributes to the formation of the mitochondria; and Wassilieff (1907) in *Blaps*. The latter investigator describes an expulsion of the nuclear material in the primary spermatocyte upon which the formation of the mitochondria is supposed to depend. He also recognizes a small

number of mitochondria in the spermatogonia, which also are assumed to have a similar nuclear origin.

The arguments of Morse (1909) repeated by Duesberg (1910) that nuclear growth, particularly growth of plasmosome and accessory chromosome is incompatible with mitochondrial origin from that source, has in reality little force. It seems more reasonable to suppose that during a stage of great metabolic activity such as characterizes the actively growing nucleus, superabundant chromatin would be most available for mitochondrial formation.

Henneguy (1904) first described mitochondria in the primary spermatocyte of *Pyrrhocoris apterus*, *Forficula auricularia* and *Gryllus campestris*. Zweiger (1907) confirmed this finding for *Forficula*. The Schreiners (1905—1908) report chondriosomes in the primary spermatocyte of *Myxinoides*. Tretjakoff (1905) finds the mitochondria in *Ascaris meg.* first in the young spermatid. In *Ascaris canis*, Marcus (1906) describes an expulsion of trophochromatin into the protoplasm of the primary spermatocyte. Likewise Depdolla (1905) in *Lumbricus terrestris* finds mitochondria first in the primary spermatocytes. Pantel and de Sinety (1906) state that they are unable to find mitochondria in the spermatogonia of *Notonecta glauca*. They describe a transitory formation of "pseudochromosomes" in the primary spermatocytes. Gross (1907) describes the appearance of "pseudochromosomes" (mitochondria) in the primary spermatocyte of *Pyrrhocoris apterus*. In *Paludina vivipara* and *Helix pomatia*, Popoff (1907) describes the expulsion of nuclear substance during the "bouquet stage" of the growth period. This chromatin is supposed to form chondriosomes, and its elimination to have established equilibrium between the protoplasm and nucleus (i. e. trophochromatin and idiochromatin; (Kern-plasma-relation hypothesis of R. Hertwig). Davis (1908) illustrates mitochondria in the primary spermatocytes of certain orthoptera; likewise Buchner (1909); Oettinger (1909) describes chondriosomes in the primary spermatocytes of *Pachyiulus varius*.

Expulsion of nuclear chromatin during the growth period of the primary oocyte has also been described by Moroff (1909) for certain copepods, Jörgensen (1910) for certain sponges, and Schaxel (1910) for certain ascidians.

On the contrary Benda (1897 — mouse), Retzius (1909 — rat), Regaud (1910 — rat), Duesberg (1907—1910 — *Blaps*, *Triton*, rat, cat, and guinea-pig) and others have described mitochondria in the spermatogonia, and in a number of cases have followed their simple distribution

(equal?) among the daughter spermatocytes where they are said to undergo a numerical increase. (Duesberg earlier, 1907, noted chondriosomes first only at the end of the growth period of the primary spermatocyte in the guinea-pig.)

The long list of observations, however, indicating a first appearance of mitochondria in the growing spermatocyte (oocyte) cannot be ignored. Duesberg meets this array of contradictory evidence (i. e. to his continuity theory) with the statement, "faulty technique". Such a statement must, however, further include an explanation of why (as in my own material of opossum testis) the "imperfect" fixation and staining reveals the chondriosomes only at certain stages and not at others. In the testis of the opossum there are possible mitochondrial elements (very similar in form and staining quality to true chondriosomes) among the deutoplasmic spheres and granules of the spermatogonia and trophocytes. But there is a very conspicuous absence of either elements in the young spermatocytes. Only in later stages of the growth period (i. e. post-synaptic stage — pachytenic phase of the nucleus) do they appear in quantity; and their appearance is coincident with a transient achromatic reticular phase of the nucleus, and an extrusion of nuclear chromatin. The extrusion cannot be proved by the cytological evidence of a transit through the nuclear membrane (i. e. lacunae in membrane and granules caught half-way) but is inferred from the fact that intra-nuclear and extra-nuclear particles have a similar form and staining reaction. Subsequently half the periphery of the nucleus may be surrounded with closely adhering compact spherical or bilobed chromidia. This phase is coincident with an absence of chromatin particles within the nucleus. The appearance of chondriosomes in clumps throughout the cytoplasm is coincident with the disappearance of the above elements externally on the nuclear membrane. The evidence thus points strongly, I believe, to a nuclear (chromidial) origin of chondriosomes.

Montgomery (1910) has shown clearly in *Euchistus* that size of spermatocyte (and amount of the mitochromidial substance in the cytoplasm — regarded as nuclear in origin) is closely related to size of Sertoli cells (i. e. nutritional factors). The amount of mitochondria seems due to the quantity of food-supply — and the metabolic activity of the cells is under the control of the nucleus. If mitochondria can increase in number with increase of nutrition, they may very well disappear after periods of great activity, as after spermatogonial division. Such evanescence renders the interpretation of mitochondria as hereditary Anlagen, as Duesberg suggests, very improbable. Thus they may be absent in

very young spermatocytes, as they seem to be in the opossum and in many other cases reported; and their origin in Sertoli cells and spermatogonia may be the same (i. e. nuclear) as in the primary spermatocytes. I believe that the fact of their apparent absence in the young spermatocytes of the opossum (and possibly other forms) is one of the strongest arguments against the Benda-Meves-Duesberg theory of their continuity and hereditary significance. If they are simply undifferentiated integral elements of the cytoplasm carried unchanged into the spermatozoa why should they have disappeared at a particular stage (or even decreased in number, or changed chemically) represented by a cell treated similarly to cells which clearly show them?

It would seem that even a poor technique that, however, reveals them clearly and typically at a certain stage and subsequently should reveal them at every stage (when present) represented by cells in the same tissue. Their absence at a particular phase and their sudden appearance in great quantity at a definite stage must be explained on other grounds than poor fixation, or inappropiate staining methods. I must emphasize the fact here that the bodies described are true mitochondria, for they can easily be traced into the spiral filament of the middle-piece even in unstained preparations. The mitochondria of the later spermatids are for the most part (some have become vesicular — abundant transition stages leave no doubt regarding the identity and origin of the latter) exactly similar to those of the prophase of the spermatocyte, and meanwhile they have greatly increased in number in spite of the enlargement of the spermatid. I cannot satisfy myself as to the mode of increase but there is some evidence that chromidia are again formed (though only in small numbers) in the resting stage of the secondary spermatocytes and early spermatids. Of course I cannot be certain that the chromidia metamorphose into mitochromidia. But the evidence points strongly that way, and if the identity is admitted I see no escape from the conclusion that the mitochondria arise in the nucleus as urged by Hertwig and Goldschmidt and others. It is of course possible that we are dealing here with two different substances. The evidence of Scott and of Dolley, as above stated, indicating a nuclear (chromidial) origin for tigroid substance, and that of Meves and Duesberg indicating a mitochondrial origin of neurofibrillae, suggests such a probability[9]). Nor can the objection to iron-haematoxylin (in preference to Benda's supposed specific mitochondrial stain) in this connection be accorded much weight. For why in this instance should one put more reliance in one method that another? Iron-haematoxylin reveals true mitochondria at all stages after a certain

point. What proof have we that the granules of the spermatogonia stained with Benda's stain are real mitochondria? (cf. H. Heidenhain, 1911, p. 1080 and 1088). There may be still other cytoplasmic granules besides yolk and mitochondria. Perhaps Benda's stain does not differentiate between certain food granules and mitochondria, just as iron-haematoxylin does not, or only poorly, between yolk and mitochondria. It will be noted, however, that my identification of mitochondria rests as much upon morphological evidence as upon the iron-haematoxylin staining reaction. The point here is that Benda's stain does not appear to be any more specific for typical mitochondria than iron-haematoxylin.

Again, the loss of a considerable amount of mitochondrial substance in the cast-off portion of the original spermatid — a product analogous to the "cytoplasmic vesicle" described by Meves (1899) in the guinea-pig and illustrated also by Duesberg (1910) — during the process of metamorphosis, militates against the interpretation of mitochondrial continuity and a hereditary rôle of this substance. This loss is probably what Retzius refers to when he speaks of the »bedeutende Verminderung ihrer Substance, als sie in die Bildung der Spiralfaser eingehen« — a statement which Duesberg says he is unable to comprehend, consequently does not consider in the light of his theory.

The above detailed evidence strongly indicates a nuclear origin for the mitochondria in the opossum, and furnishes a number of facts which do not seem to conform with the attractive theory of mitochondrial continuity.

Spermatozoon.

Summary. The mature spermatozoon consists of a head, body with middle-piece (text fig. 1), and flagellum. The head is horse-shoe-shaped and represents the spermatid nucleus very compact, chromatic and split from before backwards, possibly by inpushing of the Nebenkern. The head forms the rim of the funnel-shaped body (open anteriorly, the opening representing the cephalic end of the V-shaped ventral space in the "funnel"). The latter is thicker dorsally and contains the intermediate- or middle-piece. The body represents a portion of the original cytoplasm of the spermatid (i. e. that portion included within the lateral limits of the caudally migrating Nebenkern — figs. 71 and 72), a considerable portion with mitochondria being discarded, and another considerable portion going to form the flagellum or tail. The origin of the middle-piece in toto is obscure. The Nebenkern seems to persist in part in the anterior portion (growing progressively smaller — forming possibly

the acrosome) after the middle-piece is formed; and the idiozome seems to fragment and disappear within the body about the same time. It is possible that both of these structures may contribute something to the middle-piece, more particularly the Nebenkern, but the evidence is in-

Text Figure 1.

Text Figure 2.

Text Figure 1. Illustration showing the latest stage of development attained by the spermatozoa in the testis. Remnant of Nebenkern (homologue of acrosome?) still visible. × 1500.

Text Figure 2. Camera lucida drawing (ventral view) of spermatozoon from smear preparation (stained with carbol-fuchsin) from vas deferens, showing head, middle-piece, flagellum and end-piece. × 1500.

decisive. The middle-piece is cigar-shaped, the pointed end anteriorly, and ending in an end-knob (centrosome), the blunt end corresponding with the caudal limit of the body. The middle-piece contains a spiral filament peripherally, clearly formed of mitochondria. The history of

the second centrosome could not be determined. It is probably represented by the plate separating middle-piece from flagellum (text fig. 2). An axial tail filament extends from the end-knob through the middle-piece to the tip of the flagellum. There is no distinct end-piece at this stage. Analogy in a number of points with conditions described by Meves (1908) and Duesberg (1910) for the guinea-pig and by Duesberg (1908) for the rat may hold also with respect to the middle-piece of the opossum. If so, it is probably formed by the second (wandering or migratory) centrosome and surrounded by the mitochondrial sheath (spiral filament). The latter appears separated from the axial filament by an appreciable interval and enclosed in a delicate superficial membrane. The body proper comprises that portion of the original cytoplasm of the spermatid enclosed within the limits of that part of the Nebenkern which flows around and behind the nucleus. A small portion, persisting anteriorly, may form an acrosome.

Literature. The only literature touching the morphology of the opossum spermatozoon (spermion; zoosperme) is a brief description, with several illustrations of paired spermatozoa from the vas deferens, by Selenka (1887). As regards structure simply, I can add nothing essentially new to Selenka's earlier illustrations.

Fürst (1887) has described the structure of the spermatozoon of a marsupial (*Metachirus quica*). This seems to differ only in unimportant details from Selenka's description of the opossum spermatozoon. The U-shaped head, Fürst divides into two "partes laterales", "crura capitis" (free ends) and "pars intermedia capitis" (thicker curved end). Moreover, Fürst reverses ventral and dorsal sides according to my interpretation of the morphology of the opossum sperm. Fürst thinks that the acrosome is applied externally to the bend of the "U". The spermatohistogenetic process of the opossum, as above described, shows clearly, I believe, that the acrosome or its analogue, is placed at the opposite pole (i. e. in opening of the "U"). Neither Fürst nor Selenka have studied the development of the marsupial spermatozoon they describe, nor has marsupial spermatogenesis, as far as I can learn, ever been described in full. Von Korff (1902) gives a brief description of the spermatozoon of the kangaroo.

Regarding the origin and proximate fate of the mitochondria, Nebenkern and idiozome a brief comparison will be made in the next section between the spermatoozon of the opossum and that of the rat (von Lenhossék, 1898; Retzius, 1909; Regaud, 1908; and Duesberg, 1908), guinea pig (Meves, 1896, 1899; Duesberg, 1910), cat (Leplat, 1910),

kangaroo (von Korff, 1902), macaque (Moreaux, 1909) and man (Benda, 1897; Meves, 1899). Moreaux (1909) summarizes very briefly the facts respecting the histogenesis of primate spermatozoa. A good historical review of the literature relating to the histogenesis of the mammalian spermatozoa will be found in Hertwig's Handbuch and in the works of Regaud (1908), Retzius (1909), Duesberg (1910), and Leplat (1910).

Discussion. Study of living spermatozoa and of stained smear preparations from the vas deferens of the opossum shows that the "mature" spermatozoon of the seminiferous tubules undergoes still further changes in passing through the epididymis to the vas deferens. In the testes the body and spiral filament are coextensive with the middle-piece. In the sperm of the epididymis the "body" covers only about one half (subsequently still less) of the middle-piece, and has opened up ventrally, thus forming a sort of bilateral fin for the middle-piece, anteriorly united to the limbs of the U-shaped head. Moreover, a delicate spiral thread appears in the upper end of the flagellum apparently continuous with the spiral filament of the middle-piece. Also, the middle-piece is now slightly narrower than the flagellum at the point of union (a conspicuous plate) and the limbs of the U-shaped head are now flattened and curved slightly downward and outward (text fig. 2). In the globus minor, the sperm are still unpaired; in the vas the vast majority are paired and swim very actively. After several minutes on the slide many pairs disjoin (apparently by violent traction, thus producing torn surfaces) and move about very rapidly independently. In the light of this last observation it appears probable that the temporarily paired (a very intimate lateral fusion, apparently involving cytoplasmic continuity) spermatozoa again separate prior to fecundation.

The middle-piece of the spermatozoon of the kangaroo is derived, according to von Korff (1902) from mitochondrial elements. The latter, however, do not apparently form a spiral filament.

Duesberg (1908) described the formation of the spiral filament of the rat by a confluence of granular mitochondria progressing from the head caudally. In his later paper Duesberg derives the spiral filament by a deposit among the mitochondria of a homogeneous substance which stains like mitochondria. The Nebenkern (i. e. the hyaline sphere) according to Regaud, Retzius and Duesberg becomes the acrosome; and the idiozome, or idiozome remnant, disappears. The cytoplasm of the spermatid does not here contribute to the middle-piece. This, according to Duesberg, is formed solely from the ring centrosome and all the mitochondria.

Regaud, on the other hand, believes that only a portion of the spermatocyte mitochondria contribute to the formation of the spiral filament. Primarily, he derives the mitochondria from an intermitochondrial cytoplasm, "protoplasme commun", and denies for them a nuclear origin.

In the cat, Leplat (1910) describes the formation of the spiral filament, or its analogue, by a superposition of discs which ultimately fuse to form a homogeneous mitochondrial sheath. Here also the Nebenkern, "hyaline sphere", becomes an acrosome and the idiozome apparently disappears.

In macaque, Moreaux (1909) also derives the spiral filament from the mitochondria.

In the mouse, von Lenhossék (1898) describes a "Sphäre" (Nebenkern?, with centrosome) forming the acrosome; and a disappearing Nebenkern. A second degenerating structure is illustrated in the cytoplasm. It seems probable that the second body has separated from the "Sphäre" and represents the idiozome; while the so-called "Nebenkern" represents a "chromatoid body".

For the guinea-pig, Duesberg describes very similar appearances. The mitochondria form a sheath for the middle-piece. There is here no spiral filament as in cat, rat and mouse. The mitochondria are supposed to blend with a homogeneous substratum (which stains like mitochondria in Benda's stain), a condition similar to what he described earlier (1907) in *Rana fusca*.

Benda (1903) demonstrated chondriosomes in many classes of vertebrates. In the guinea-pig he traced these bodies into a spiral filament, but described the latter as separated from the axial filament by a "Schwanzmanschette". He has recently (according to Duesberg) admitted the degeneration of the "manchette", as described by Duesberg. The latter claims that the spiral filament (mitochondrial sheath) directly surrounds the axial filament.

The Nebenkern (here first interpreted by Duesberg on the basis of its staining reaction as a mitochondrial mass) becomes an acrosome and the idiozome disappears with the "cytoplasmic vesicle" together with a large mass of "tingierbare Körner" (mitochondria?) and fat particles.

Retzius denies the existence of a spiral filament in primates, including man, where it was earlier described by Benda (1897) and Meves (1899).

The spiral filament of marsupials is composed of independent granules according to Retzius (1904). This is not the case in opossum, where

my observations convince me that the originally separate granules become fused into a continuous filament[10]) [11]).

It appears that, despite great morphological variations (and certain obscurities respecting details), the spermiohistogenetic process is very similar in many mammals; i. e. the archoplasmic remnant (centrosphere) of the second maturation mitosis separates into idiozome (from which separate the centrosomes: centrioles) and Nebenkern. The latter becomes the acrosome (a portion perhaps contributing to the middle-piece), the former seems to degenerate and disappear. DUESBERG describes and illustrates also certain "chromatoid bodies" in the secondary spermatocytes and spermatids of the rat and the guinea-pig, and interprets them as the persisting nucleoli of the "auxocytes". Similar bodies were not definitely recognizable in my material of opossum testes. LEPLAT also was unable to identify such structures in the testes of the cat. Nor can I differentiate from mitochondria the "tingierbare Körner" of VON EBNER described by DUESBERG for the rat and guinea-pig in the discarded "cytoplasmic vesicle". I believe that there is no question of such bodies in the opossum testes. The granules and spherules present are more probably chondriosomes.

It is precisely here that DUESBERG's theory of the continuity of mitochondria, based upon a specifity of staining reaction to BENDA's stain, fails. In the degenerating mass of cytoplasm (cytoplasmic vesicle) are numerous bodies morphologically and tinctorially identical with the mitochondria of the middle-piece. Apparently, for DUESBERG, those particles which pass into the middle-piece are mitochondria, not those which stain violet in BENDA's stain. Again, the so-called fat granules are morphologically similar to the mitochondria. If BENDA's stain colors the idiozome (Nebenkern — forms acrosome in guinea-pig) violet sometimes and brown sometimes (the latter reaction is accepted as the proper one, hence the idiozome is not here regarded as mitochondrial in nature) how can DUESBERG be certain that the bodies like fat granules (similar to true chondriosomes morphologically) and the "tingierbare Körner" are not unstained mitochondria, or that the violet mitochondria-like bodies in the degenerating portion of the spermatid are not mitochondria? In the invertebrates the Nebenkern contributes to the middle-piece, hence DUESBERG, after staining it violet, calls it mitochondrial. The interpretation seems perfectly justified here since the Nebenkern can be traced back in the developmental history to independent chondriosomes. The point is that the staining reaction alone is not final proof of their true nature. On the other hand, in the guinea-pig where the Nebenkern ("idio-

zome") forms the acrosome, but also sometimes stains violet in Benda's stain, it is considered non-mitochondrial.

Moreover, Meves (1907) objects to the use of iron-haematoxylin because it stains everything. If this is so — as seems true — why should it not stain mitochondria whenever and whereever present? Why should they not appear in the early growth period of the primary spermatocyte (auxocyte)? In iron-haematoxylin-stained material one can distinguish between mitochondria, "tingierbare Körner", fat granules and "chromatoid bodies" only on grounds of size, structure and origin. These after all seem the only certain criteria. In short, there is no difference from this standpoint, between the mitochondria which pass into the middle-piece and those mitochondria-like bodies which are discarded with the cast-off cytoplasm of the cell; and this fact, together with the fact of the absence of mitochondria in early growth stages, and their apparent relation to the nuclear extrusions, seriously invalidates the mitochondrial continuity theory of Benda (1903) ,Meves (1907) and Duesberg (1910). The authors of this theory may indeed have "hiermit einen Wechsel auf die Zukunft gezogen" (Heidenhain).

Foot-notes.

[1]) I am indebted to Mr. G. K. Flynn and Mr. S. D. Lamon for the adult opossum from which I obtained the best material.

[2]) Through the kindness of Dr. R. H. Whitehead I have since had opportunity to study also sections of this same material treated according to Benda's method for the demonstration of mitochondria in the interstitial cells. My findings with respect to the mitochondria of the seminal epithelium accord entirely with those noted for the preparations described in the body of this paper, and lead to the same conclusions regarding their origin and fate.

[3]) From a third pair of adult testes recently obtained, I have made smear preparations with a view to studying under possibly more natural conditions the synapsis phase and the accessory chromosome. Iron-haematoxylin-stained preparations show with especial clearness a continuity of the early postsynaptic thread, with the accessory chromosome attached to one end. There appears also a slight indication of a duplicity of the thread. Very rarely there occurs a second body (plasmosome) in early postsynaptic stages; but in later postsynaptic (achromatic) stages only the accessory chromosome is present. Chondriosomes are very conspicuous in the spermatids and in the middle-piece of the spermatozoa. Delafield's haematoxylin stain combined with eosin reveals the same structures with equal clearness, with the exception of the mitochondria and the middle-piece of the spermatozoa.

[4]) In smear preparations of the contents of the vas deferens stained with carbol-fuchsin, twin spermatozoa appeared abundantly. The heads of the paired and single spermatozoa showed a peculiar differential staining capacity: the former stained only very faintly, the latter very intensely.

[5]) In primary spermatocytes of the white mouse there is present in the nucleus during the stage intervening between synizesis and the prophase of the first maturation division (i. e. from the synaptenic through the pachytenie phase) a body which behaves in all respects like a heterochromosome. It is an oval (sometimes somewhat irregular, i. e. bipartite and cone-shaped) sharply contoured body, close to the nuclear membrane, and usually at the point where the idiozome lies. Sometimes it is clearly in close connection with the segmenting spireme. Similar appearances present themselves in *bos taurus* (SCHOENFELD shows this monosome-like body, "corpuscule intra-nucléaire", in his figs. 4, 26 and 30) and the horse. In the latter the auxocytes are considerably smaller than in the bull and thus more difficult to study. The heterochromosome in the horse is small and frequently appears double or even triple. Nor is it as definitely and invariably oriented as in the opossum. Due to the large number and the crowding of the chromosomes it cannot be followed through the mitoses. The conspicuous presence of the accessory chromosome in the horse is apparently very transient. All of these cases are under further investigation. At present I am unable to elucidate the question either of the origin or fate of this body in the above three cases. On the basis of its appearance in early prophase it may tentatively be interpreted as an accessory chromosome. Neither in the resting primary spermatocytes nor in the maturation mitoses can it be definitely identified. It would seem that a chromosome (probably bivalent) of the ordinary type here for a brief period behaves like a heterochromosome, thus only revealing its true nature as a specific element possibly with a specific function, whatever this may be. It seems probable that heterochromosomes of various degrees of differentiation will be discovered in all forms, their apparent absence being due to our inability to recognize them. In the squirrel, for example, I am unable to recognize any chromosome at any stage comparable to a heterochromosome — and yet if one is essential to the opossum its analogue would seem to be equally essential to the squirrel. If one is present in the squirrel it certainly is at no time polarized and must be very obscure or very minute. VAN MOLLÉ's (La Cellule 23 and 24, 2) illustrations of early auxocytes of the squirrel also do not show any structure resembling an accessory chromosome; though "chromoplastes" appear in the leptotenic phase.

[6]) Nuclei in the synizesis phase appear abundantly in the smear preparations described in foot-note 3. Careful comparison with nuclei at the same stage in sections reveals practically no difference in consequence of fixation.

[7]) Except as the paired mitochondria above noted may bear the interpretation suggested.

[8]) More recently MEVES (Arch. f. mikr. Anat. u. Entwickl. 16 : 4) has used the terms "plastomes", "plastocoms" and "plastochondria" in a general sense. SCHAXEL (Arch. f. mikr. Anat. u. Entwickl. 16 : 3) uses the term "kinetochromidia" for these same bodies.

[9]) It may be that chromidia are the forerunners of both the tigroid substance and mitochondria, the latter further differentiating into neurofibrillae.

[10]) According to SCHOENFELD's figs. 1 to 5, the sphere (idiozome and Nebenkern) has a history in *bos taurus* very similar to what is here described for the opossum and other mammals.

[11]) In the squirrel, according to the illustrations of VAN MOLLÉ, the homologues of the Nebenkern and idiozome of the opossum appear to have a similar history. The migrating portion of the original sphere (idiozome) disappears within the posterior cytoplasmic mass as the "sphere", while the persisting anterior portion (Nebenkern)

caps the nucleus and forms the acrosome. However, in the metamorphosing opossum spermatid the centrosomes are never angled ("équerre"), nor does an additional cap ("capuchon") appear over the acrosome. Moreover, there is nothing analogous to the multiple amorphous "corps chromatoide" among the mitochondria, nor does the analogue of the squirrel "manchette" arise as an extrusion of karyoplasm. (C. f. Duesberg, 1910, for full discussion and criticism of van Mollé's description of the spermatogenesis of the squirrel.)

Literature.

Ballowitz, E. 1895. Die Doppelspermatozoen der Dytieiden. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LX.

Bardeleben, K. von. 1897. Beiträge zur Histologie des Hodens und zur Spermatogenese beim Menschen. Arch. f. Anat. u. Phys., Anat. Abt. Supplement.

Benda, C. 1897. Neuere Mitteilungen über die Histogenese des Säugetierspermatozoon. Verhandl. der phys. Gesellsch. Berlin. 1898. Über die Spermatogenese der Vertebraten und höherer Evertebraten. II. Die Histogenese der Spermien. Ebenda 1903. Die Mitochondria. Ergebnisse der Anat. u. Entwickl. Bd. XII.

Bilék, F. 1909. Über die fibrillären Strukturen in den Muskel- und Darmzellen der Ascariden. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XCIII.

Bonnevie, K. 1907. "Heterotypical" mitosis in Nereis limbata Ehlers. Biol. Bull. Vol. XIII.

—— 1908. Chromosomenstudien. Arch. f. Zellf. Bd. I.

Boveri, Th. 1904. Ergebnisse über die Konstitution der chromatischen Substanz des Zellkerns. Jena.

Brunn, A. von. 1884. Beiträge zur Kenntnis der Samenkörper und ihrer Entwicklung bei Säugetieren und Vögeln. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XXIII.

Buchner, P. 1909. Das accessorische Chromosom in Spermatogenese und Ovogenese der Orthopteren, zugleich ein Beitrag zur Kenntnis der Reduktion. Arch. f. Zellf. Bd. III.

—— 1910. Von den Beziehungen zwischen Centriol und Bukettstadium. Arch. f. Zellf. Bd. V. Hft. 2.

Cardiff, I. D. 1906. A study of synapsis and reduction. Bull. Torrey Botanical Club (N. Y.. U. S. A.). Vol. XXXIII.

Ciaccio, C. 1910. Contributo alla distribuzione ed alla fisio-patologia cellulare dei lipoidi. Arch. f. Zellf. Bd. V. Hft. 2.

Davis. H. S. 1908. Spermatogenesis in Aeridídae and Locustidae. Bull. Mus. Comp. Zool. Harvard. Vol. LIII.

Depdolla, Ph. 1905. Untersuchungen über die Spermatogenese von Lumbricus terrestris. Zool. Anz. Bd. XXVIII.

—— 1906. Beiträge zur Kenntnis der Spermatogenese beim Regenwurm (Lumbricus terrestris. L.). Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXXXI.

Dobell, C. C. 1909. Chromidia and the Binuclearity Hypothesis; a Review and a Criticism. Quart. Journ. Micr. Sci. Vol. LIII.

Dolly, D. H. 1909. The neurocytological reaction in muscular exertion. I. Preliminary communication. Amer. Journ. Phys. Vol. XXV.

—— 1910. The pathological cytology of surgical shock. II. The numerical statement of the upset of the nucleus-plasma relation in the Purkinje cells. Journ. Med. Research. Vol. XXII. Nr. 2.

Duesberg, J. 1907. Der Mitochondrial-Apparat in den Zellen der Wirbeltiere und Wirbellosen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXI.

—— 1908. a) Sur l'existence de mitochondries dans l'œuf et l'embryon d'Apis mellifica. Anat. Anz. Tom. XXXII.

—— 1908. b) La Spermiogénèse chez le Rat. Arch. f. Zellf. Bd. II.

—— 1910. a) Les chondriosomes des cellules embryonnaires du Poulet et leur rôle dans la genèse des myofibrilles, avec quelques observations sur le développement des fibres musculaires striées. Arch. f. Zellf. Bd. IV.

—— 1910. b) Nouvelles recherches sur l'appareil mitochondrial des cellules séminales. Arch. f. Zellf. Bd. VI.

Eisen, G. 1900. The Spermatogenesis of Batrachoseps. Journ. Morph. Vol. XVII.

Farmer, J. B. and Moore, J. E. S. 1904. On the meiotic phase in animals and plants. Quart. Journ. Vol. XLVIII.

Fauré-Frémiet, M. E. 1909. Sur les réactions de quelques mitochondries. Comptes Rendus. Tom. CXLIX.

—— 1910. La continuité des mitochondries à travers des générations cellulaires et le rôle de ces éléments. Anat. Anz. Bd. XXXVI.

Fürst, K. M. 1887. Über die Entwicklung der Samenkörperchen bei den Beuteltieren. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XXX.

Goglio-Tos, E. e Granata, L. 1908. I mitochondri nelle cellule seminali maschili di Pamphagus marmoratus (Burm.). Biologica. Tom. II.

Goldschmidt, R. 1904. Der Chromidialapparat lebhaft funktionierender Gewebszellen. (Histologische Untersuchungen an Nematoden. 2.) Zool. Jahrb., Abt. f. Anat. u. Ont. Bd. XXI.

—— 1908a. Über das Verhalten des Chromatins bei der Eireifung und Befruchtung des Dicrocoelium lanceatum. Arch. f. Zellf. Bd. I.

—— 1908b. Ist eine parallele Chromosomenkonjugation zu beweisen? Arch. f. Zellf. Bd. I.

Goldschmidt, R. and Popoff, M. 1907. Die Karyokinese der Protozoen und der Chromidialapparat der Protozoen- und Metazoenzelle. Arch. f. Protistenkunde. Bd. VIII.

Granata, L. 1910. Le cinesi spermatogenetiche di Pamphagus marmoratus. Arch. f. Zellf. Bd. V.

Grégoire, V. 1904. La reduction numérique des chromosomes et les cinèses de maturation. La Cell. Tom. XXI.

—— 1908. Les phénomènes de l'étape synaptique représentent-ils une caryocinèse avortée? La Cell. Tom. XXV.

Gross, J. 1907. Die Spermatogenese von Pyrrhocoris apterus. Zool. Jahrb., Abt. f. Anat. u. Ont. Bd. XXIII.

Guignard, L. 1899. Sur les anthérozoïdes et la double copulation sexuelle chez les végétaux angiospermes. C. R. Tom. CXXVIII. Nr. 14,

Guyer, M. F. 1903. Spermatogenesis of Normal and Hybrid Pigeons. Univ. of Cincinnati. Bull. Vol. III. Nr. 22.

Guyer, M. F. 1909a. The spermatogenesis of the Guinea. Anat. Anz. Bd. XXXIV. Nr. 20.

—— 1909b. The spermatogenesis of the Domestic Chicken. Anat. Anz. Bd. XXXIV. Nr. 22.

—— 1910. Accessory Chromosomes in Man. Biol. Bull. Vol. XIX. Nr. 4.

Hanes, F. M. 1910. The biological significance of the Sertoli cells. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. Vol. VII. Nr. 5.

Heidenhain, M. 1900. Die Centralkapseln und Pseudochromosomen in den Samenzellen von Proteus, sowie über ihr Verhältnis zu den Idiozomen, Chondriomiten und Archoplasmaschleifen usw. Anat. Anz. Bd. XVIII.

—— 1907. Plasma und Zelle. I. und II. (1911). Jena.

Henneguy, L. F. 1904. Les Insects. Paris.

Hertwig, O. 1906. Handbuch der vergleichenden und experimentellen Entwicklungslehre der Wirbeltiere. Jena.

Hertwig, R. 1898. Über Kernteilung, Richtungskörperbildung und Befruchtung von Actinosphaerium Eichhorni. Abh. d. bayr. Akad. d. Wissensch.

—— 1903. Über Korrelation von Zell- und Kerngröße und ihre Bedeutung für die geschlechtliche Differenzierung und die Teilung der Zelle. Biol. Centralbl. Bd. XXIII.

—— 1907. Über Chromidialapparat und die Kernsubstanzen. Sitz.-Ber. d. Ges. Morph. Phys. München.

—— 1908. Über neue Probleme der Zellenlehre. Arch. f. Zellf.

Janssens, F. A. 1905. Evolution des auxocytes mâles du Batrachoseps attenuatus. La Cell. Tom. XXII.

Jordan, H. E. 1908. The spermatogenesis of Aplopus mayeri. Carnegie Institution of Washington, U. S. A., Nr. 102. Abstract. in Anat. Anz. Vol. XXXII.

—— 1908. The Relation of the Nucleolus to the Chromosomes in the Primary Oocyte of Asterias forbesii. Carnegie Inst., Wash., Pub. Nr. 102.

—— 1910. The Relation of Nucleoli to Chromosomes in the Egg of Cribrella Sanguinolenta Lütken. Arch. f. Zellf. Bd. V. Heft 3.

Jörgensen, M. 1910. Beiträge zur Kenntnis der Eibildung, Reifung, Befruchtung und Furchung bei Schwämmen (Syconen). Arch. f. Zellf. Bd. IV.

Von Korff, K. 1901. Zur Histogenese der Spermien von Phalangista vulpina. Arch. f. mikr. Anat. u. Entw.-Gesch. Bd. LIV.

Lams, H. 1908. Les divisions des spermatocytes chez la Fourmi (Camponotus herculeanus L.). Arch. f. Zellf. Bd. I.

Lenhossék, M. von. 1898. Untersuchungen über Spermatogenese. Arch. f. mikr. Anat. u. Entwickl. Bd. LI.

Leplat, G. 1910. La spermiogénèse chez le Chat. Arch. de Biol. Tom. XXV.

Marcus, H. 1906. Ei- und Samenreife bei Ascaris canis. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXVIII.

Mc Clung, C. E. 1900. The Spermatocyte Divisions of the Acrididae. Kansas Univ. Bull. Vol. I., II.

—— 1908. Spermatogenesis of Xiphidium fasciatum. Sci. Bull., Kansas Univ. Vol. IV. No. 4.

Meirowsky, E. 1908. Über den Ursprung des Melanotischen Pigments der Haut und des Auges. Leipzig.

Mesnil, F. 1905. Chromidies et questions connexes. Bull. Inst. Pasteur. Tom. III.

Meves, Fr. 1899. Über Struktur und Histogenese der Samenfäden des Meerschweinchens. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LIV.
—— 1900. Über den von la Valette St. George entdeckten Nebenkern (Mitochondrienkörper) der Samenzellen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LVI.
—— 1901. Struktur und Histogenese der Spermien. Ergebnisse der Anat. und Entwicklung. Bd. II.
—— 1903. Über oligopyrene und apyrene Spermien und über ihre Entstehung, nach Beobachtungen an Paludina und Pygaera. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXI.
—— 1907. Die Spermatocytenteilungen bei der Honigbiene (Apis mellifica L.), nebst Bemerkungen über Chromatinreduktion. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXX.
—— 1907. Über Mitochondrien bzw. Chondrioconten in den Zellen junger Embryonen. Anat. Anz. Bd. XXXI.
—— 1908. Es gibt keine parallele Konjugation der Chromosomen! Arch. f. Zellf. Bd. I.
—— 1908. Die Chondriosomen als Träger erblicher Anlagen. Cytologische Studien am Hühnerembryo. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXII.
—— 1910. Über Strukturen in den Zellen des embryonalen Stützgewebes, sowie über die Entstehung der Bindegewebsfibrillen, insbesondere derjenigen der Sehne. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXV.
—— 1910a. Über Aussaat männlicher Mitochondrien im Ei bei der Befruchtung. Anat. Anz. Bd. XXXVI.
—— 1910b. Zur Einigung zwischen Fäden und Granulalehre des Protoplasmas. Beobachtungen an weißen Blutzellen. Arch. f. mikr. Anat. u. Entwickl. Bd. LXXV.
Miyake, K. 1905. Über Reduktionsteilung in den Pollenmutterzellen einiger Monokotylen. Jahrb. w. Bot. Bd. XLII. Nr. 83.
Mollé, J. van, 1907. Les spermatocytes dans l'écureuil. La Cell. Tom. XXIV.
Montgomery, T. H. 1901. A Study of the Chromosomes of the Germ Cells of Metazoa. Trans. Amer. Phil. Soc. (Philadelphia, U. S. A.) Vol. XX.
—— 1906. Chromosomes in the spermatogenesis of the Hemiptera-Heteroptera. Trans. Am. Phil. Soc. Vol. XXI. Nr. 97.
—— 1906. The Terminology of the Aberrant Chromosomes, etc. Sc., n. s. Vol. XXIII.
—— 1910. On the Dimegalous Sperm and Chromosomal Variation of Euchistus, with Reference to Chromosomal Continuity. Arch. f. Zellf. Bd. V.
Moore, J. E. S. and Walker, C. E. 1906. The maiotic Process in Mammalia. Liverpool Institute for Cancer Research.
Moreaux, R. 1909. Note sur la spermiogénèse du Macaque. C. R. de la Soc. Biol. Tom. LXVII.
Moroff, T. 1909a. Oogenetische Studien. I. Copepoden. Arch. f. Zellf. Bd. II.
—— 1909b. Die physiologische Bedeutung des Kernes bei der Entstehung der Muskeln. Centralbl. f. Physiologie. Bd. XXII.
Morse, M. 1909. The nuclear components of the sex-cells of four species of cockroaches. Arch. f. Zellf. Bd. III.
Nichols, M. L. 1910. The Spermatogenesis of Euchroma gigantea. Biol. Bull. Vol. XIX. Nr. 3.
Oettinger, R. 1909. Zur Kenntnis der Spermatogenese bei den Myriopoden. Samenreifung und Samenbildung bei Pachyiulus varius Fabr. Arch. f. Zellf. Bd. III.

Overton, J. B. Über Reduktionsteilung in den Pollenmutterzellen einiger Dikotylen. Jahrb. w. Bot. Bd. XLII.

Pantel, J. et de Sinety, R. 1906. Les cellules de la lignée mâle chez le Notonecta glauca L. La Cell. Tom. XXIII.

Popoff, M. 1907. Eibildung von Paludina vivipara und Chromidien bei Paludina und Helix. Mit Anhang: Zu der Frage nach dem Spermatozoendimorphismus bei Paludina vivipara. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXX.

Regaud, C. 1908. Sur les mitochondries de l'epithelium séminal. C. R. de la Soc. de Biologie. Tom. LXV.

—— 1910. Etude sur la structure des tubes séminifères et sur la spermatogénèse chez les Mammifères. Arch. d'Anat. micr. Tom. XI.

Retzius, G. 1904. Zur Kenntnis der Spermien der Evertebraten. Verhandl. der anat. Gesellsch. Jena.

Russo, A. 1910. Ancora sui Mitochondri dell' oocite di Coniglia, sul loro aumento e sulla loro funzione. Anat. Anz. Bd. XXXVII.

Samssonow, N. 1910. Über die Beziehungen der Filarmasse Flemmings zu den Fäden und Körnern Altmanns, nach Beobachtungen an Knorpel-, Bindegewebs- und Epidermiszellen. Arch. f. mikr. Anat. u. Entwickl. Bd. LXXV.

Sargant, E. 1897. The formation of sexual nuclei in Lilium martagon. Annals of Botany. Vol. II.

Schaffner, J. H. 1907. On synizesis and synapsis. Ohio (U. S. A.) Naturalist.

Schaudinn, F. 1905. Neuere Forschungen über die Befruchtung bei Protozoen. Verh. deutsch. zool. Ges. Breslau.

Schaxel, J. 1910. Die Morphologie des Eiwachstums und der Follikelbildung bei den Ascidien. Ein Beitrag zur Frage der Chromidien bei den Metazoen. Arch. f. Zellf. Bd. IV.

Schoenfeld, H. 1901. La spermatogénèse chez le taureau. Arch. de Biol. Tom. XVIII.

Schreiner, A. et K. E. 1905. Über die Entwicklung der männlichen Geschlechtszellen von Myxine glutinosa L. Arch. de Biol. Tom. XXI.

Scott, E. H. 1899. Structure, Microchemistry and Development of Nerve Cells. Trans. Canadian Inst. Vol. V.

Selenka, G. 1887. Studien über Entwicklungsgeschichte der Thiere. Bd. IV. Opossum. Wiesbaden.

Stevens, N. M. 1905. Studies in Spermatogenesis with Especial reference to the "Accessory Chromosome". Carnegie Inst. Wash., Pub., Nr. XXXVI.

—— 1906. A Comparative Study of the Heterochromosomes in Certain Species of Coleoptera, Hemiptera and Lepidoptera, with Especial Reference to Sex Determination. Ibid. Nr. XXXVI. Part 2.

—— 1908. A Study of the Germ-cells of Certain Diptera, with Reference to the Heterochromosomes and the Phenomena of Synapsis. Journ. Exp. Zool. Vol. V.

Tretjakoff, D. 1905. Die Spermatogenese von Ascaris megalocephala. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXV.

Tschaschin, S. 1911. Über die Chondriosomen der Urgeschlechtszellen bei Vögelembryonen. Anat. Anz. Bd. XXXVII.

Vejdovsky, F. 1907. Neue Untersuchungen über die Reifung und Befruchtung. Königl. Böhm. Gesellschaft der Wiss. Prag.

Wassilieff, A. 1907. Die Spermatogenese von Blatta germanica. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXX.

Wilson, E. B. 1905a. The Chromosomes in Relation to the Determination of Sex. Science. n. s. Vol. XXVII.

—— 1905b. The Behavior of the Idiochromosomes in Hemiptera. Studies in Chromosomes. I. Journ. Exp. Zool. Vol. II.

—— 1905c. The Paired Microchromosomes, Idiochromosomes and Heterotropic Chromosomes in Hemiptera. Studies on Chromosomes. II. Journ. Exp. Zool. Vol. II.

—— 1906. The Sexual Differences of the Chromosomes in Hemiptera, etc. Studies on Chromosomes. III. Ibid. Vol. III.

—— 1909a. The accessory Chromosome in Syromastes and Pyrrhocoris. Sudies on Chromosomes. IV. Journ. Exp. Zool. Vol. VI.

—— 1909b. The Chromosomes of Metapodius. A Contribution to the Hypothesis of the Genetic Continuity of Chromosomes. Studies on Chromosomes. V. Ibid. Vol. VI.

Von Winiwarter, H. 1900. Recherches sur l'ovogénèse et l'organogénèse de l'ovaire des Mammifères. Arch. de Biol. Tom. XVII.

Von Winiwarter, H. et Saintmont, G. 1909. Nouvelles recherches sur l'ovogénèse et l'organogénèse de l'ovaire des Mammifères (chat). Arch. Biol. Tom. XXIV.

Zoja, L. e R. 1891. Intorno ai plastiduli fucsinofili (bioblasti dell' Altmann). Mem. Ist. Lomb. Sc. Lett., Milano. Tom. XVI.

Zweiger, H. 1907. Die Spermatogenese von Forficula auricularia L. Jenaische Zeitschrift. Bd. LXII.

Description of Illustrations.

Plate I.

(All illustrations made at a magnification of 1500 diameters.)

Fig. 1. Metaphase plate of chromosomes of primary spermatogonium; 17 chromosomes (diploid group = 16 autosomes and 1 monosome).

Fig. 2. Secondary spermatogonium with resting nucleus.

Fig. 3. Prophase stage showing segmenting monospireme and centrosphere (idiozome).

Fig. 4. Late prophase; spindle seen in side view; largest chromosome probably the accessory.

Figs. 5 and 6. Metaphase plates of secondary spermatogonia (premeiotic cells — Moore and Walker) showing 17 chromosomes.

Fig. 7. Metaphase plate of dividing interstitial cell with 17 chromosomes.

Figs. 8, 9 and 10. Resting primary spermatocytes (meiotic cells; protobroch nucleus — Winiwarter). 8 shows three plasmosomes; 9 and 10, each a chromatin-nucleolus.

Figs. 11 and 12. Presynaptic stages (leptotene stage — Winiwarter) showing a thickening continuous (?) monospireme.

Fig. 13. "Bouquet stage" (contraction phase), height of loops about half the diameter of nucleus; two loops have opened up, their free ends in close apposition; loops converge on point where centrosphere (idiozome; this one shows a centrosome) is located; this point also the place where the accessory chromosome is invariably situated.

Fig. 14. Polar view of similar stage.

Fig. 15. Later contraction phase(synizesis; synaptenie nucleus — WINIWARTER). Centrosome again discernable.

Fig. 16. Synapsis (telosynapsis): height of loops about equal to diameter of nucleus; pachytene stage (WINIWARTER).

Fig. 17. Early postsynaptic phase; the loops appear joined to form a continuous moniliform spireme with accessory chromosome attached to one end.

Figs. 18, 19, 20, 21 and 22. Successively later postsynaptic stages; the accessory chromosome always clearly distinguishable and frequently attached to one of the loops.

Figs. 23 and 24. Later stages showing the nuclear origin of chromidia (mitochondria) and the division of the centrosphere.

Figs. 25, 26, 27 and 28. Prophase stages; accessory chromosome (oval, compact, with sharp contour) conspicuous among the irregular mossy deeply-staining ordinary chromosomes (loops, rings, paired rods, etc.); chondriosomes (mitochondria) scattered throughout the cytoplasm.

Plate II.

Figs. 29, 30, 31, 32 and 33. Metaphase plates of chromosomes (9) of first maturation spindles (haploid group). The accessory chromosome is recognizable by its large size and bipartite form. Chondriosomes are scattered among the chromosomes.

Figs. 34, 35, 36 and 37. Side views of the diploid groups in metakinesis; the accessory is seen to pass undivided, and in advance of the ordinary chromosomes, to one pole. This is the reduction division.

Fig. 38. Late anaphase, showing the accessory chromosome (X) at one pole recognizable among the group of antomoses.

Figs. 39 and 40. Resting secondary spermatocytes, with and without chromatin-(chromosome = accessory) nucleolus respectively. Some new chondriosomes appear to be formed, while the majority of those present have been carried over from the mother cell.

Fig. 41. Very early prophase of the second division, the accessory chromosome close to the centrosphere (idiozome).

Figs. 42 and 43. Metaphase plates of chromosomes (4) of second maturation division (hemioid group) showing a second numerical reduction of the chromosomes.

Fig. 44. Side view of the metaphase group of 4 chromosomes and a small mitochondrial mass.

Fig. 45. Anaphase of similar group.

Fig. 46. Hemioid group of 5 chromosomes.

Fig. 47. Side view of metaphase plate of 5 chromosomes.

Fig. 48. Anaphase of similar group and a mitochondrial mass.

Plate III.

Figs. 49, 51 and 52. Hemioid groups of 5 chromosomes, showing the larger accessory chromosome.

Fig. 50. Side view of metaphase plate of 5 chromosomes.

Fig. 53. Anaphase group of 5 chromosomes.

Fig. 54. Anaphase group of 4 chromosomes.

Figs. 55, 56 and 57. Four successively later telophases of second maturation mitosis; 55 illustrates an approximately equal division of the mitochondrial substance.

Fig. 58. Early stage of spermatid showing 8 chromosomes (postmeiotic stage).

Fig. 59. Early postmeiotic stage showing 9 chromosomes.

Figs. 60 and 61. Early stages in the process of metamorphosis of spermatid into spermatozoon. Chondriosomes (mitochondria) abundantly present; a small number appear to be formed anew in the early spermatid stage.

Fig. 62. Later stage in metamorphosis showing separation of homogeneous idiozome (centrosphere) from the hyaline Nebenkern ("sphäre"; remains of achromatic spindle?).

Figs. 63 and 64. Still later stages illustrating the migration of the idiozome and the indentation and overflow of the nucleus by the Nebenkern. A large plasmosome appears in the nuclei of these early stages.

Fig. 65. Similar stage illustrating the cytoplasmic contents of deep staining peripheral granules and large mossy bodies (chondriosomes) and minute spherical vacuoles (dissolving chondriosomes?).

Fig. 66. Later stage showing the idiozome at opposite pole from the Nebenkern which has begun to flow backward around the nucleus.

Fig. 67. Still later stages showing mainly the elongation of the nucleus and its migration to the surface of the cell. Two small chromatic granules (centrosomes; centrioles) lie close to the idiozome and have probably originated from it.

Figs. 68, 69 and 70. Successively later stages showing the characteristic shape and position of the Nebenkern (anterior remnant), nucleus (with lightly-staining reticulum), plasmosome, idiozome and diplosome (centrosomes). At this stage the nucleus dips down at its peripheral end and takes a final position at the surface at right angles to its former position in the long axis of the elongated cell.

Fig. 71. View of longitudinal section of nucleus after migration. The nucleus has become more compact and uniformly chromatic. To its inner surface are attached the centrosomes from one of which the tail filament grows. The cytoplasm surrounding the filament, and from which the future body and flagellum develop, represents only a portion of the original body of the spermatid. Irrespective of the nucleus (which is migrating) this illustration represents a sagittal section of Fig. 72. The space of the oval contains the Nebenkern which has spread over the head.

Figs. 72 and 73. Side and surface views respectively of the nucleus (head) of this stage enclosed by enveloping Nebenkern.

Figs. 74, 75 and 76. Three successively later stages in the process of transformation of nucleus of spermatid to form head of spermatozoon.

Fig. 77. Side view of spermatid at stage when the Nebenkern has completely enveloped the compact chromatic head, and has delimited the portion of the cytoplasm which is to contribute the mitochondria for the spiral filament.

Fig. 78. Side view of spermatid at slightly later stage. The head has become broader in front preparatory to splitting. The portion of the cytoplasm which will contribute to the body and middle-piece is outlined by the Nebenkern which completely envelops the head. This portion contains a spherical Nebenkern-remnant. The axial filament extends the length of the elongate spermatid. The latter contains the idiozome. Some of this cytoplasm, with the mitochondria, will contribute to the flagellum, while a considerable portion will be cast off.

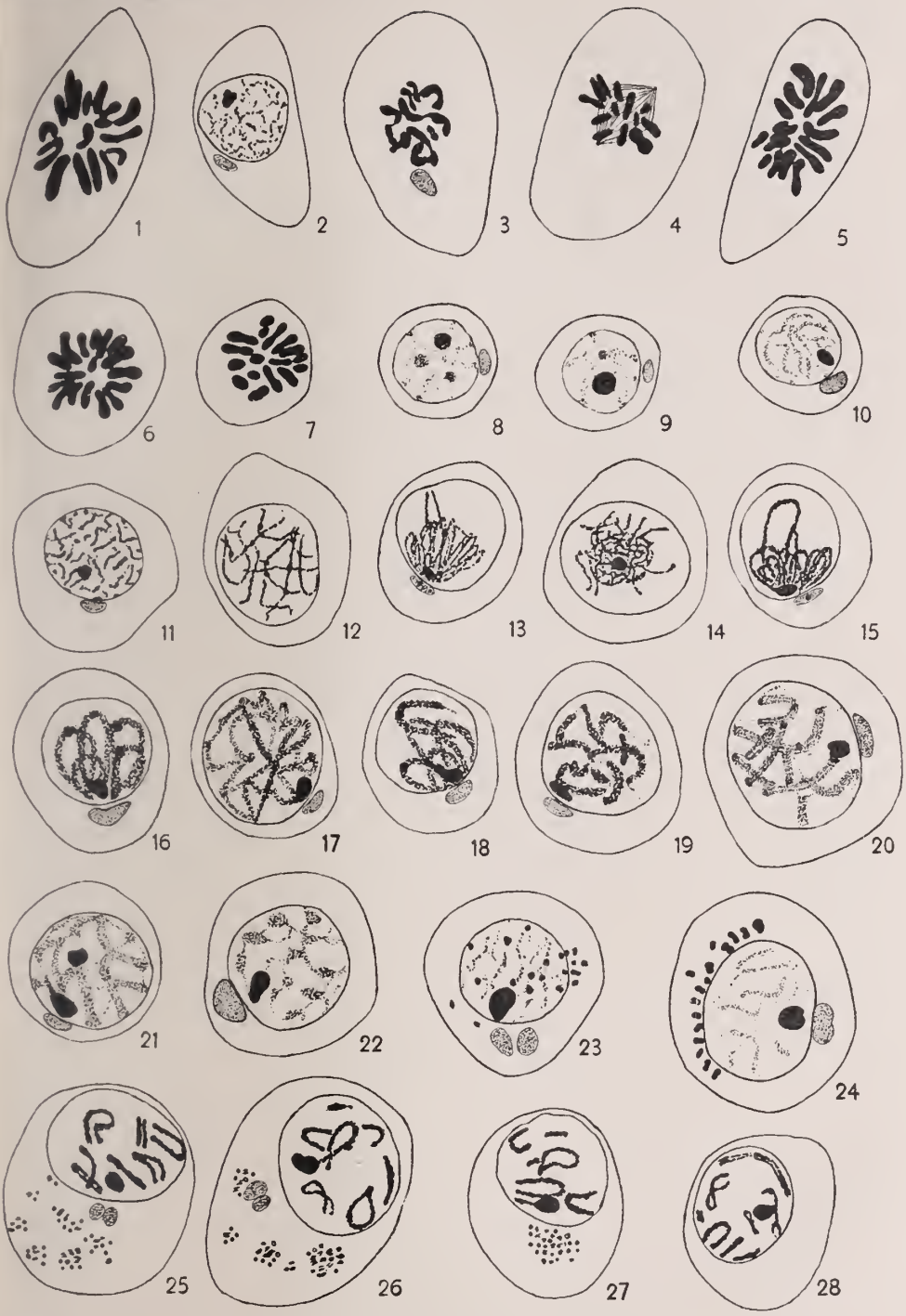
Figs. 79 and 80. Later stages showing the U-shaped chromatic head, and the centrosome from which the axial filament grows out into the elongating body and tail.

The chondriosomes (mitochondria) are seen to group themselves about the filament in the region of the future middle-piece.

Fig. 81. Still later stage showing the formation of the spiral filament of the middle-piece from chondriosomes. A special Nebenkern-remnant is here still visible in the anterior open portion of the head.

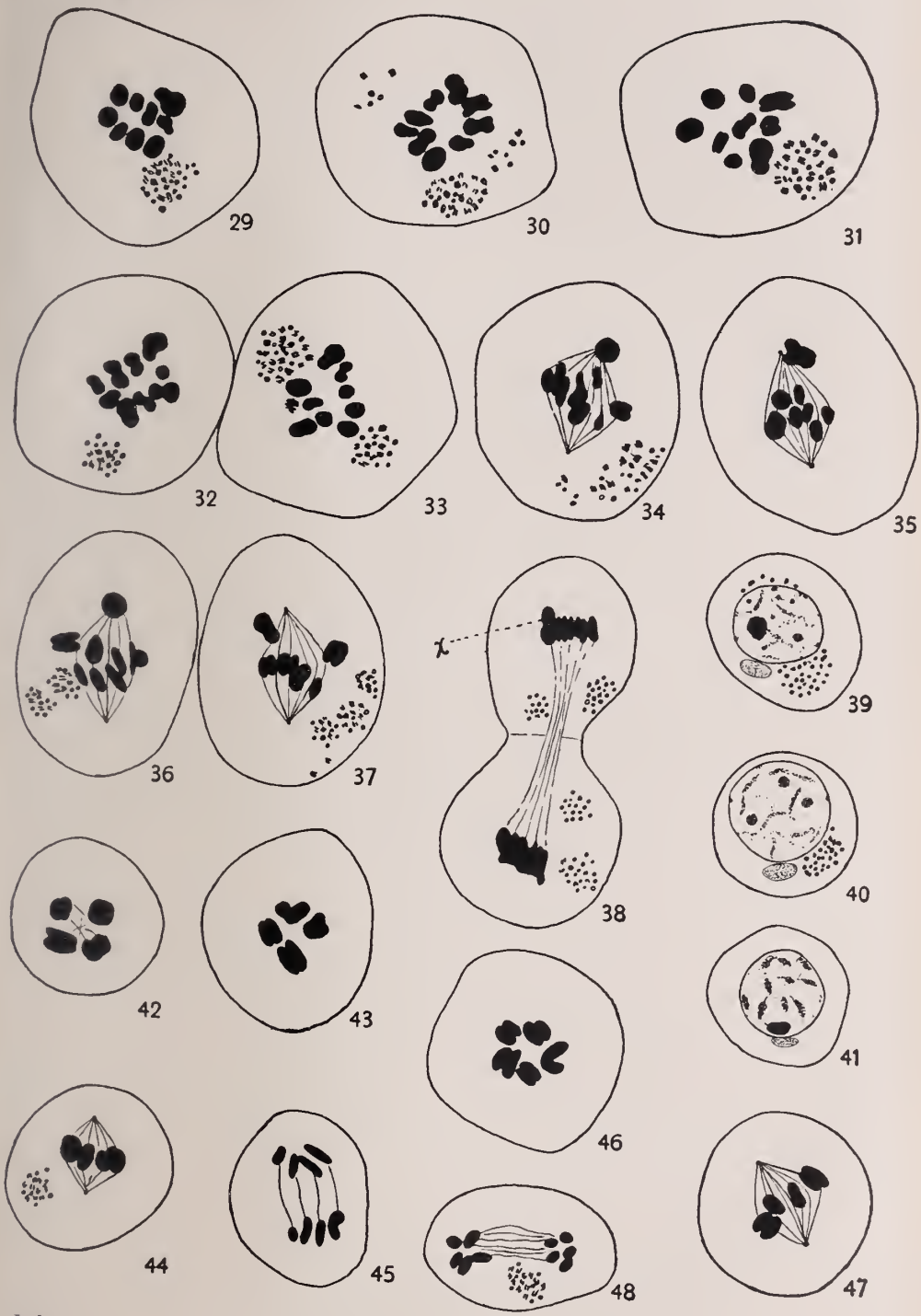
Fig. 82. Stage showing the spiral filament of the middle-piece complete; shows also the open V-shaped area in the upper ventral portion of the body, and possibly the degenerating idiozome. A centrosome apparently persists as the end-knob of the cigar-shaped middle-piece.

Figs. 83, 84, 85 and 86. Four illustrations of spermatozoa at late stages of development. The first and third show the persisting Nebenkern-remnant and the second and fourth probably the disintegrating idiozome.



Jordan.

Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig.



Jordan.

Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig.

Jordan.

Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig.

Das Verhalten des Chromatins bei Angiostomum (Rhabdonema) nigrovenosum.

Ein Beitrag zur Kenntnis der Beziehungen zwischen Chromatin und Geschlechtsbestimmung.

Von

W. Schleip.

(Aus dem Zoologischen Institut der Universität Freiburg i. Br.)

Mit Tafel IV—VIII.

Einleitung.

Die neueren Ergebnisse über die Beziehungen zwischen Chromatin und Geschlechtsbestimmung sind in den letzten Jahren in mehreren Arbeiten ausführlich besprochen worden, so unter andern von Boveri (1908), W. B. von Baehr (1909), Th. H. Morgan (1909) und Wilson (1909); daher erscheint es mir überflüssig, auf sie als Einleitung zu dieser Mitteilung einzugehen.

Die nächstliegenden Aufgaben der cytologischen Forschung auf dem Gebiet der Geschlechtsbestimmung sind folgende: Erstens bedürfen wir der sicheren Feststellung, wie weit das Vorkommen von sogenannten Geschlechtschromosomen im organischen Reich verbreitet ist. Zweitens sind die Beziehungen zwischen Chromatin und Geschlechtsbestimmung bei solchen Arten zu untersuchen, welche einen komplizierteren Entwicklungskreis durchlaufen, bei welchen also parthenogenetische Generationen mit einer geschlechtlichen abwechseln oder ein ähnlicher Generationswechsel besteht. Als Vorbild hierfür sind die Untersuchungen an Aphiden und Phylloxeriden anzusehen, welche wir Th. H. Morgan (1909), v. Baehr (1909) und Stevens (1909) verdanken. Um daran zu erinnern, wie verwickelt hier die Verhältnisse liegen, und wieviel an der Aufklärung

derselben schon gearbeitet ist, möchte ich die Ergebnisse von Morgans Untersuchungen an *Phylloxera fallax* im Zusammenhange schildern, da ich doch öfters auf sie zurückkommen muß.

Bei *Phylloxera fallax* entsteht aus dem befruchteten Winterei eine Stammutter, welche in ihren Zellen acht gewöhnliche und vier Geschlechtschromosomen besitzt. Sie bringt parthenogenetisch eine Generation geflügelter, weiblicher Individuen hervor, wobei die Eier, aus welchen letztere entstehen, nur eine Reifungsteilung durchmachen und der Chromosomenbestand sich unverändert erhält. Die geflügelten Weibchen pflanzen sich ebenfalls parthenogenetisch fort, und zwar erzeugen sie entweder große Eier, aus denen Weibchen werden, oder kleine, welche Männchen liefern. Beide Eisorten bilden ebenfalls nur einen Richtungskörper, doch verhalten sie sich dabei sehr verschieden. In den Weibcheneiern erhält sich auch diesmal der Chromosomenbestand unverändert, so daß die aus ihnen sich entwickelnden, geschlechtlichen Weibchen wie die Stammutter acht gewöhnliche und vier Geschlechtschromosomen enthalten. Die Männcheneier dagegen sollen bei der Bildung des Richtungskörpers von den letzteren zwei ungeteilt ausstoßen, so daß die Männchen zwei Chromosomen — und zwar Geschlechtschromosomen — weniger als die Weibchen besitzen. Wenn die letzteren die befruchtungsbedürftigen Wintereier ausbilden, wird in diesen die Zahl der gewöhnlichen und der Geschlechtschromosomen während der Bildung der beiden Richtungskörper in der üblichen Weise auf die Hälfte vermindert. Bei der Spermatogenese geht die Reduktion während der ersten Reifungsteilung vor sich: dabei kommen in jede Spermatocyte zweiter Ordnung vier gewöhnliche Chromosomen, während die beiden im Männchen noch vorhandenen Geschlechtschromosomen nur einer der beiden Zellen zugeteilt werden. Daher kommen zweierlei Spermatocyten zweiter Ordnung zustande, von welchen die ohne Geschlechtschromosomen sofort zugrunde gehen. Die andern liefern zwei Spermien unter äqualer Teilung aller Chromosomen. So werden lauter gleiche Spermien gebildet, welche den gleichen Chromosomenbestand besitzen wie die reifen Wintereier, nämlich vier gewöhnliche und zwei Geschlechtschromosomen. In den befruchteten Wintereiern ist daher wieder die doppelte Zahl vorhanden.

Auf einige Einzelheiten, sowie auf die Befunde von Morgan, v. Baehr und Stevens an Aphiden habe ich unten genauer einzugehen. Dieser Chromatincyklus, der eben geschildert wurde, steht in vollkommener Übereinstimmung mit dem, was bisher über die Beziehungen zwischen Chromatin und Geschlechtsbestimmung bekannt geworden ist; das auffallende an ihm ist aber der Umstand, daß an zwei Stellen eine Regulation der Chromosomenzahl stattfindet, nämlich erstens die Ausstoßung der beiden

Heterochromosomen im Männchenei und zweitens die Degeneration der Spermien, welche zwei Chromosomen weniger als die andern enthalten. Während letzteres mit voller Bestimmtheit nachgewiesen werden konnte und vergleichbare Vorgänge auch bei der Honigbiene, Hummel und Ameise nach Meves (1907), Lams (1908) und andern Autoren sich finden, ist die Ausstoßung von zwei Heterochromosomen, ohne daß sie wie die übrigen Chromosomen geteilt werden, ein Vorgang, der bis jetzt einzig dasteht und auch abgesehen von seiner Bedeutung für die Frage nach den geschlechtsbestimmenden Ursachen cytologisch von großem Interesse ist. Allerdings wird die Ausstoßung der Chromosomen von Morgan nur erschlossen; bei *Aphis saliceti* soll nach von Baehr in den Männcheneiern das Heterochromosom schon vor der Reifungsteilung verschwunden sein, wobei sich der genannte Autor aber nur auf eine Beobachtung stützen kann.

Es hängen also die beiden genannten Regulationsvorgänge damit zusammen, daß am Ende der Reihe parthenogenetischer Generationen aus einigen Eiern Männchen mit der geringeren Chromosomenzahl hervorgehen, während von der geschlechtlichen Generation nur Zygoten mit der für Weibchen charakteristischen Chromosomenzahl hervorgebracht werden. Läßt sich etwas Ähnliches auch sonst beobachten? Nachdem durch Boring (1909), Boveri (1909) und Edwards (1910) das Vorkommen von Geschlechtschromosomen bei mehreren Nematoden, nämlich *Ascaris megalocephala*, *Ascaris lumbricoides* und einer *Heterakis*-Art, nachgewiesen war, und nachdem ich durch meinen Kollegen, Herrn Privatdozent Dr. Kühn, darüber unterrichtet war, daß er ebensolche bei sog. Regenwurmnematoden gefunden hatte (seine Untersuchungsergebnisse sind noch nicht veröffentlicht), glaubte ich annehmen zu dürfen, daß das Vorhandensein solcher Geschlechtschromosomen ein allen Nematoden zukommendes Merkmal ist.

Wie Leuckart (1865) und sein Schüler Metschnikoff (1865) festgestellt haben, besitzt *Angiostomum nigrovenosum* Rud. (*Rhabdonema nigr.*) einen Generationswechsel, indem die in der Lunge des braunen Frosches und andrer Anuren schmarotzende Generation abwechselt mit einer freilebenden, welche getrenntgeschlechtlich ist; Schneider (1866) wies nach, daß die erstere hermaphroditisch ist.

Falls es sich zeigt, daß bei der getrenntgeschlechtlichen Generation Männchen und Weibchen sich durch ihren Chromosomenbestand ebenso unterscheiden, wie es bei andern Nematoden der Fall ist, so entsteht die Frage, wie es mit der Chromosomenzahl in der zwittrigen Generation sich verhält, und wie der Chromatincyklus in diesem Falle verläuft. Bei tierischen Zwittern (*Helix*) sind Heterochromosomen zwar schon angegeben,

doch handelt es sich vielleicht dabei um sog. »m-chromosomes« (vgl. Soos 1910); von Cardiff (1906) sind sie von einer hermaphroditischen Polygalee (*Salomonia biflora*) beschrieben worden; allerdings bestreitet Strasburger (1910) die Richtigkeit dieser Angabe ganz entschieden.

Aus dem genannten Grunde wählte ich *Angiostomum nigrovenosum* als Untersuchungsobjekt; McDowall (1906) hatte zwar schon vorher über die Keimzelleubildung dieses Nematoden berichtet, aber in seiner kurzen, vorläufigen Mitteilung nur einen Teil der Eireifung beschrieben, und eine ausführliche Arbeit ist mir nicht bekannt geworden. Ich fand alsbald, daß das Objekt für cytologische Studien nicht so ungünstig ist, als es nach den Angaben des genannten Autors scheint.

Über den ersten Teil meiner Untersuchungen, der die Bildung der Keimzellen der zwittrigen Generation, die Befruchtung und die erste Entwicklung der gonochoristischen Generation behandelt, soll hier berichtet werden; die wichtigsten Ergebnisse habe ich (1911) in einer vorläufigen Mitteilung beschrieben. Leider konnte ich nicht gleich die Untersuchung des ganzen Chromatincyklus beenden; die Beobachtung der Chromosomen der freilebenden Generation ist recht schwierig und zeitraubend, und andre Arbeiten drängen zu einem vorläufigen Abschlusse. Ausdrücklich möchte ich hervorheben, daß ich mich ausschließlich auf die Untersuchung der chromatischen Substanz beschränkt habe und auf Plasma mit Einschlüssen sowie auf die Centrosomen nur soweit als erforderlich eingehe.

Die Untersuchungsmethode war einfach. Die der Lunge von *Rana temporaria* entnommenen Würmer wurden alsbald in kalter, seltener in warmer Sublimatlösung nach Gilson-Petrunkewitsch, zur Kontrolle auch in Flemmings starkem Gemisch fixiert. Die Schnitte wurden zur Erleichterung der Chromosomenzählung 7.5—15 μ dick angefertigt. Zur Färbung benutzte ich entweder Delafieldsches Hämatoxylin und Pikrokarmin oder Eisenhämatoxylin mit Bordeauxrot, Orange oder Lichtgrün.

Beschreibender Teil.

I. Ovogenese.

In allen wesentlichen Punkten verlaufen Eibildung und Eireifung bei *Angiostomum* ebenso wie bei andern Tieren, insbesondere wie bei Nematoden, und sind auch, wie erwähnt, von McDowall (1906) schon teilweise beschrieben worden. Trotzdem glaube ich, auch von diesem Teile des Chromatincyklus eine kurze Beschreibung und eine annähernd vollständige

Reihe von Abbildungen geben zu sollen, damit die Phasen des Chromatincyklus von *Angiostomum*, welche sich abweichend verhalten, deutlicher hervortreten. Ich erachte es aber nicht für nötig, auf die ziemlich umfangreiche Literatur über die Eireifung bei Nematoden ausführlich einzugehen.

Die Individuen der zwittrigen Generation von *Angiostomum* sind, wenn man von dem Inhalt ihrer Keimröhren absieht, im wesentlichen gerade so gebaut, wie die Weibchen getrenntgeschlechtlicher Nematoden. Man kann jede ihrer beiden Keimröhren in folgende Abschnitte einteilen: 1. Keimzone, 2. Synapsiszone, 3. Wachstumszone, 4. Receptaculum seminis und 5. Uterus. Dazu kommt die unten zu besprechende Zone, in welcher die Samenzellen sich bilden (Hodenzone).

1. Keimzone.

Die Keimregion enthält in lebhafter Vermehrung begriffene Zellen, welche mit dem Namen Ovogonien bezeichnet werden sollen, obwohl aus ihnen auch die Samenzellen hervorgehen. Der Anfang dieses Keimröhrenabschnitts wird von einer Zelle mit großem Kern (Fig. 8) gebildet, welche offenbar nichts mit den Ovogonien zu tun hat. Sie wurde niemals in Teilung gefunden und gehört sicherlich zu den Zellen, welche die Wand der Keimröhren bilden. Weiter unten sind die Kerne derselben kleiner und im Querschnitt spindelförmig (siehe z. B. Fig. 1).

Die Ovogonien im Anfangsteil der Keimzone scheinen immer deutlich voneinander getrennt zu sein, vielleicht weil hier die Vermehrung nicht so lebhaft ist, doch hängen sie mit einem in der Achse der Keimröhre verlaufenden Plasmastrange, der Rhachis, zusammen (Fig. 8). In deren Mitte färbt sich oft ein Faden besonders stark mit Eisenhämatoxylin, nicht nur hier, sondern auch an andern Stellen; ich erwähne das deshalb, weil wir später daran Reste der Rhachis wieder erkennen werden. Erst etwas weiter unten, d. h. vom Anfang der Keimröhre entfernter, liegen die Ovogonien so dicht aneinander, daß sie ein Syncytium bilden.

Die ruhenden Ovogonienkerne sind am Anfange der Keimzone bedeutend größer als an ihrem Ende (vgl. Fig. 9 und 10). Dabei machen aber einige Kerne eine Ausnahme, die unter ihren Nachbarn wie Riesen erscheinen; ich habe darunter noch größere als den in Fig. 11 abgebildeten gefunden. Ihre Bedeutung ist mir unbekannt geblieben; es sind keine Anzeichen dafür vorhanden, daß sie zugrunde gehen. Vielleicht beruht ihre beträchtlichere Größe nur darauf, daß sie sich aus irgend einem Grunde weniger oft als ihre Nachbarn geteilt haben. Die Anordnung des Chromatins und die Form und Beschaffenheit des Kernkörperchens in den ruhenden Ovogonien geht zur Genüge aus Fig. 9 bis 11 hervor.

Auch die zu jedem Kern gehörende Plasmamenge nimmt gegen das Ende der Keimzone hin zweifellos an Größe ab; da aber gleichzeitig der Kern sich sehr beträchtlich verkleinert, so erfolgt während der Vermehrungsteilungen keine erkennbare Verschiebung der Kernplasmarelation zugunsten des Kernes. Das widerspricht der physiologischen Zellteilungstheorie von R. Hertwig, welcher in der Vermehrungsphase stets eine Verschiebung des Massenverhältnisses von Kern und Plasma voraussetzt, woraus dann ein Depressionszustand der letzten in der Keimregion entstehenden Zellgeneration folgen soll.

Teilungsstadien von Ovogonien sind sehr häufig zu finden, und man kann in allen Äquatorialplatten, in welchen die Chromosomen überhaupt zu zählen sind, stets zwölf feststellen (Fig. 13 bis 18). An den Chromosomen läßt sich dieselbe Erscheinung beobachten wie an den ruhenden Kernen im ganzen: sie nehmen gegen das Ende der Keimzone hin an Größe ab (vgl. Fig. 13 mit 14, Fig. 15 mit 18); doch gibt es Ausnahmen von dieser Regel genug, welche vielleicht auf der verschieden starken Verdichtung der Chromosomen beruhen. Eine weitere Frage ist die, ob stets gleiche Größenunterschiede zwischen den Chromosomen eines Kernes vorhanden sind, und ich glaube, daß dies wirklich der Fall ist. Man vergleiche nur Fig. 17 und 18, wo man deutlich vier kleinere und acht größere Chromosomen unterscheiden kann. So deutlich ist das aber nicht sehr häufig zu sehen; die Fälle, in welchen man die genannten Größenunterschiede nicht oder nur unvollkommen findet, muß man dann damit erklären, daß die scheinbare Größe eines Chromosoms von seiner zufälligen Lage abhängt und daß die einzelnen Chromosomen verschieden weit in der Zusammenziehung vorgeschritten sein können. In manchen Mitosen findet man zuweilen ein Chromosom (Fig. 19) oder auch zwei ein wenig abseits von den andern liegen; daß es sich dabei nicht um den Nucleolus handelt, geht sicher daraus hervor, daß in solchen Äquatorialplatten, in welchen man die Chromosomen zählen kann, das abseits liegende mit den andern zusammen die Zahl zwölf voll macht. Obgleich solche Vorkommnisse selten sind, wollte ich sie doch nicht übergehen; denn es wird sich unten zeigen, daß in einem gewissen Abschnitt des Chromatincyklus zwei Chromosomen sich anders verhalten als die übrigen und eines von diesen beiden stärker abweichend als das andre. Daher mag es vielleicht nicht ohne Bedeutung sein, daß schon während der Vermehrungsphase manchmal ein Chromosom, manchmal zwei durch ihr Verhalten sich von den andern unterscheiden können.

Der Nucleolus, der sich im ruhenden Kern mit Chromatinfarbstoffen stets ziemlich stark färbt, wird während der Prophase blasser und ver-

schwindet früher oder später (Fig. 13 und 14) und muß sich also während der Telophase wieder neu bilden. Ich erwähne das deshalb, um ausdrücklich zu betonen, daß der Kernkörper mit einem Chromosom nichts zu tun hat.

2. Synapsiszone.

Die Umwandlung der ruhenden Kerne am Ende der Keimzone, also der jüngsten Ovocyten erster Ordnung, in die Kerne der Synapsiszone geht aus Fig. 20 bis 24 hervor. Der Synapsisknäuel liegt hier nicht, wie sonst in der Regel, an einer Seite des Kernraums, sondern meistens in seiner Mitte, und der große Nucleolus ist ihm dicht angelagert. Das Synapsisstadium kommt in allen Keimröhren so regelmäßig und stets in gleicher Ausbildung vor, daß ich nicht daran zweifle, daß es kein Kunstprodukt ist.

3. Wachstumszone.

Am Ende der Keimzone und in der Synapsiszone sind die Kerne in dem die Keimröhre ausfüllenden Plasma gleichmäßig verteilt, ohne daß Zellgrenzen zu erkennen sind; auch sieht man nichts von einer Rhachis. Im Anfang der sehr langen Wachstumszone werden die Ovocytenkerne allmählich immer mehr dicht unter das Keimröhrenepithel verlagert, und Zellgrenzen schneiden zwischen ihnen ein, so daß die Ovocyten auf Querschnitten durch die Keimröhre in der bekannten Weise radiär um die Rhachis angeordnet sind. Weiterhin verschwinden die Furchen oft, in andern Keimröhren bleiben sie erhalten. Gegen das Ende der Wachstumszone hin lösen sich die Eier von der Rhachis allmählich ab, werden ellipsoidisch und gleiten erst zu zweien nebeneinander, dann einzeln das letzte Ende der Keimröhre hinunter, bis sie ins Receptaculum seminis gelangen.

Auf die Veränderungen, welche das Chromatin während der Wachstumsperiode durchmacht, gehe ich nur ganz kurz ein, weil es bei *Angiostomum* doch nicht möglich ist, die Chromosomen während dieser Periode sicher zu verfolgen. Dadurch ist es natürlich auch unmöglich, die Frage der Reduktion der Chromosomenzahl hier sicher zu entscheiden. Daher sei nur folgendes erwähnt: Die im Synapsisknoten zusammengeballten Chromatinfäden werden lockerer verteilt, wobei man oft erkennen kann, daß es sich um eine Anzahl einzelner Fäden handelt (Fig. 25). Der Kern vergrößert sich und mit ihm der Nucleolus und die Chromatinschlingen (Fig. 26 und 27), und früher oder später sieht man in letzteren eine deutliche Längsspaltung (Fig. 28). Später verlaufen die Chromatinfäden stärker gewunden und sehen gezackt aus (Fig. 29), und erfüllen schließlich den mächtig herangewachsenen Kernraum in Form von kürzeren oder längeren

Chromatinsträngen, deren große Zahl wohl darauf beruht, daß jeder einzelne der sehr lang gewordenen und gewundenen Chromatinfäden vom Mikrotommesser mehrmals durchschnitten wurde (Fig. 30). Da sich die Chromatinstränge nie völlig in Körnchen oder dergleichen auflösen, und da stets in einigen von ihnen ein Längsspalt deutlich sichtbar ist (Fig. 30), so steht der Annahme nichts entgegen, daß die aus dem Synapsisknoten herausgetretenen, sich längsspaltenden Chromatinfäden während der ganzen Wachstumsperiode erhalten bleiben.

4. Ausbildung der Chromosomen am Ende der Wachstumszone.

Am Ende der Wachstumsperiode entwickeln sich im Keimbläschen die Chromosomen; unter den zahlreichen Chromatinfäden treten einige Stränge immer deutlicher hervor, während die Grundsubstanz des Kernes selbst ebenfalls fädigen Bau zeigt (Fig. 31, ebenso wie Fig. 32 *a* bei halb so starker Vergrößerung wie die übrigen Abbildungen gezeichnet), und durch Verkürzung der Chromatinstränge entstehen schließlich sechs Chromosomen (Fig. 32). Anfangs scheinen sie stets Doppelstäbchen zu bilden oder winklig geformt zu sein, machen aber dann offenbar recht merkwürdige Gestaltsveränderungen durch, wie aus Fig. 32*a* bis 35 zu ersehen ist; doch sind alle diese Chromosomenformen bekanntlich schon oft gefunden und beschrieben worden. Allen ist gemeinsam, daß sie aus zwei Teilen bestehen; vielfach ist noch eine zweite Spalte in ihnen, so daß deutliche Vierergruppen vorhanden sind. In der Regel liegen die beiden Einheiten eines solchen Chromosoms einander dicht an; in andern Fällen sind sie ziemlich weit voneinander entfernt, so daß man z. B. in Fig. 33 auf den ersten Blick sieben Chromosomen zu sehen glaubt. Nach McDowall sollen überhaupt anfangs die zwölf Einzelchromosomen stets getrennt liegen und sich erst während der hier besprochenen Stadien paarweise vereinigen; ich fand dagegen, daß zuerst sechs Doppelchromosomen in dem Keimbläschen auftreten, welche dann während der Gestaltveränderungen, die sie durchmachen, alle oder zum Teil mehr oder weniger deutlich in ihre Einzelchromosomen zerfallen können; insofern stimme ich aber mit McDowall überein, als ich auch stets in der Äquatorialplatte wieder sechs Doppelchromosomen fand.

Aus Gründen, die bekannt genug sind, ist anzunehmen, daß diese sechs Doppelchromosomen durch paarweise Verschmelzung der zwölf in den Ovogonien vorhandenen Einzelchromosomen entstanden sind; die Annahme einer solchen Chromosomenkonjugation wird durch das Verhalten des Chromatins während der Spermatogenese eine Stütze erhalten. Wie sich aber die Einzelchromosomen gepaart haben, ob endweise oder parallel,

läßt sich schon deshalb nicht entscheiden, weil die Chromosomen vor Beginn der Wachstumsperiode nicht zählbar und während dieser nicht sicher zu verfolgen waren. Auch kann man nichts Bestimmtes über das Schicksal der oben erwähnten Längsspaltung in den Chromatinfäden aussagen. In Fig. 34 sieht man unter andern drei kreuzförmige Chromosomen mit einem Längs- und einem Querspalt; solche Formen sprechen bekanntlich für die Annahme einer endweisen Konjugation, und diese findet im weiteren Verhalten der Chromosomen noch einige Stützen, auf welche ich aber nicht weiter eingehe. Aber ein wirklicher Beweis liegt nicht vor, denn man kann auch alle beobachteten Chromosomengestalten auf ein Paar parallel liegender Stäbchen zurückführen, von welchen jedes eine Längsteilung erfährt. Ich lasse also die Frage, wie die zur Erklärung des Vorhandenseins von sechs Doppelchromosomen angenommene, paarweise Konjugation der zwölf Einzelchromosomen im genaueren vor sich gegangen ist, unentschieden; daher brauche ich auch auf die ziemlich große Literatur über die Entstehung der Tetraden bei andern Nematoden nicht einzugehen (vgl. O. Hertwig 1890, Brauer 1893, Tretjakoff 1905 a und b, Blanckertz 1910 u. a.).

An dieser Stelle sei erwähnt, daß ich zweimal in der Äquatorialplatte der ersten Richtungsspindel eine größere Chromosomenzahl, nämlich wahrscheinlich zwölf beobachtete (Fig. 42). Eine Erklärung für diese abweichende Zahl ergibt sich leicht, da wir später sehen werden, daß in den somatischen Zellen der nächsten Generation die doppelte Chromosomenzahl wie in den Zellen der Keimbahn vorhanden ist; daher müssen wir die bisher und auch im folgenden als Einzelchromosomen bezeichneten Gebilde für Sammelchromosomen erklären, welche abnormerweise auch im Eikern in ihre beiden Elemente zerfallen können. Tatsächlich sind in den beiden erwähnten Fällen die Chromosomen auch bedeutend kleiner als gewöhnlich. Ähnliches habe ich (1908) auch bei *Formica sanguinea* beobachtet.

Während der Ausbildung der Chromosomen nimmt der Nucleolus rasch an Größe ab, zerfällt dabei zuweilen in zwei oder mehr Stücke (Fig. 36) und verschwindet vor der Ausbildung der ersten Richtungsspindel vollständig. Vor der Auflösung der Kernmembran sieht man im Kerninnern eine Strahlung auftreten, welche entweder nur einen kleinen Teil des Kernraums oder aber den ganzen ausfüllt (Fig. 34 und 33). Wenn die Kernmembran verschwunden ist, wird das dichte Plasma, in welchem die Chromosomen liegen, von einer sehr schön ausgebildeten Strahlung umgeben, die aber bald darauf nicht mehr vorhanden ist. Ich gehe auf diese eigentümliche Struktur, welche eine eingehendere Untersuchung verdient, nicht näher ein.

5. Die Reifungsteilungen.

Nachdem die Ovocyte in das Receptaculum eingetreten ist, ordnen sich die Chromosomen zur Äquatorialplatte der ersten Richtungsspindel an; etwa gleichzeitig erfolgt das Eindringen des Spermiums, und wenn das Ei dann in den Uterus gelangt ist, werden beide Reifungsteilungen durchgeführt. Dieselben verlaufen in so typischer Weise, daß ich nur das Wichtigste zu erwähnen brauche und im übrigen auf Fig. 37 bis 50 verweisen kann. Mit Ausnahme der beiden oben erwähnten Fälle habe ich also ebenso wie McDowall in der Äquatorialplatte der ersten Richtungsspindel stets sechs Chromosomen vorgefunden. In beiden Reifungsmitosen teilen sich alle sechs Chromosomen, und zwar verhalten sich alle dabei ganz gleich; keines bleibt bei der Wanderung an die Spindelpole hinter den andern zurück. In den ersten Richtungskörper, welcher stets von dem Ei abgeschnürt wird, gelangen natürlich sechs Chromosomen und erfahren dort zuweilen alle oder zum Teil eine Spaltung. Die im Ei verbliebenen sechs Chromosomen werden alsbald wieder geteilt, und in den zweiten Richtungskörper, welcher sich vom Ei anscheinend nie loslöst, gelangen ebenso wie in den weiblichen Pronucleus sechs Chromosomen. In welcher von den beiden Mitosen die Reduktion der Chromosomenzahl durchgeführt wird, ist natürlich deshalb nicht sicher zu sagen, weil die Bedeutung der Längsspalte in den Doppelchromosomen nicht sicher festzustellen war; McDowall meint, daß es bei der ersten Reifungsteilung geschieht, und auch ich möchte das für am wahrscheinlichsten halten, weil es bei der Spermatogenese auch so ist.

Wir fanden in den Ovogonien häufig acht größere und vier kleinere Chromosomen; nach andern Vorkommnissen zu schließen müßten wir erwarten, unter den sechs Doppelchromosomen bzw. Tetraden der Ovocyte erster Ordnung sowie unter den daraus hervorgehenden Einzelchromosomen im weiblichen Vorkern und in den Richtungskörpern vier größere und zwei kleinere unterscheiden zu können; doch war es nicht möglich, hier konstante Größenunterschiede festzustellen.

II. Spermatogenese.

Der Samenzellenbildung hermaphroditischer Nematoden hat man bisher noch sehr wenig Aufmerksamkeit geschenkt; so erwähnt Mc Dowall (1906) in seiner Arbeit über die Eireifung bei *Angiostomum* darüber gar nichts. Schneider (1866), welcher den Hermaphroditismus bei *Angiostomum* und andern Nematoden entdeckt hat, bemerkt, daß die ersten von der Keimsäule sich lösenden Keime dunkelkörnig werden und sich

teilen wie in einem Hoden; nach einiger Zeit soll die Spermatozoenbildung aufhören, und die Keime werden nun zu Eiern. Schneider gibt auch eine, aber nicht sehr eingehende Zeichnung einer Keimröhre von *Leptodera foecunda*, in welcher sich gerade Samenzellen bilden. Von *Angiostomum nigrovenosum* schreibt derselbe Autor: »Leider ist es auch schwerer als bei den freilebenden Zwittern, sich direkt zu überzeugen, daß der Eierstock in einem früheren Stadium den Samen bereitet, da die Geschlechtsorgane der *Ascaris nigrovenosa* sich nicht leicht herausdrücken lassen, sondern fest mit der Leibeswand zusammenhängen. Inzwischen ist es mir aber doch gelungen ein Exemplar zu finden, welches noch keine Eier enthielt, wohl aber Samen in dem noch unentwickelten Stadium als körnige Kugeln, und zwar im Hinterende der Tuben.« Und weiter: »Die Spermatozoen zeichnen sich wie bei jenen Zwittern (*Leptodera*, *Pelodera*) durch eine ungewöhnliche Kleinheit aus.« Maupas (1900) hat dem Vorgang der Spermabildung bei seinen Untersuchungen an zwittrigen Nematoden ebenfalls keine eingehendere Beachtung geschenkt. Er gibt an, daß die von ihm gefundenen, freilebenden Nematodenzwitter in ihren Genitalorganen zuerst eine bestimmte Menge Sperma erzeugen. Zu dieser Zeit sehe man die jungen Keimzellen der vorderen Ovarregion, welche mit dem Wachstum begonnen hatten, dieses einstellen, sich zweimal hintereinander teilen und auf diese Weise in kleine Spermatozoen umwandeln, welche im Receptaculum seminis aufbewahrt werden. Wenn die Genitalorgane reifer geworden seien, sollen die Keimzellen der vorderen Region des Ovars fortfahren heranzuwachsen, sie häufen im Plasma Dotter an und wandeln sich in große Eier um.

Aus diesen beiden Untersuchungen, welche natürlich nicht von cytologischen Gesichtspunkten aus angestellt wurden, geht schon mit Sicherheit hervor, daß bei den Nematodenzwittern ebenso wie bei den zwittrigen Pulmonaten Eier und Samenzellen in der gleichen Keimdrüse entstehen, und daß hier wahrscheinlich ursprüngliche Eizellen zu Samenzellen werden.

Der Vorgang der Samenbildung bei *Angiostomum nigrovenosum* zerfällt in zwei Hauptteile, nämlich erstens die Entstehung der Spermatocyten erster Ordnung in den Keimröhren und zweitens die Samenreifungsteilungen und die Umbildung der Spermatiden in die Spermien. Auch den ersten Teil der Samenbildung werde ich ausführlich schildern, obwohl ich dabei von dem eigentlichen Thema, dem Verhalten des Chromatins, etwas abschweifen muß; aber es ist erforderlich, weil, wie erwähnt, über die erste Anlage der Samenzellen bei zwittrigen Nematoden noch sehr wenig bekannt ist.

1. Entstehung der Spermatocyten erster Ordnung.

a) Allgemeines über Vorkommen und Lage der Hodenzonen.

Bei allen reif gewordenen Individuen der zwittrigen Generation findet man in beiden Receptacula seminis fertige Spermien, und zwar manchmal sehr viele, so daß der Samenbehälter von ihnen ganz erfüllt ist, manchmal bedeutend weniger; im Uterus liegen Embryonen, in der Keimröhre oberhalb des Receptaculum natürlich Ovocyten, von der Synapsiszone gegen das Receptaculum hin in der beschriebenen Weise an Größe zunehmend. Bei den meisten Tieren fand ich nun in beiden Keimröhren oder wenigstens in einer derselben einen kurzen, selten über 200—250 μ langen Abschnitt, in welchem Samenzellen entstehen; es können nur Spermatocyten erster Ordnung vorhanden sein, oder auch die folgenden Stadien der Spermatogenese, oder ausschließlich fertige Spermien. Die »Samenbildungs- oder Hodenzonen«, wie ich sie nennen will, können ganz oben in der Keimröhre, fast unmittelbar unterhalb der Synapsiszone liegen, was ich allerdings nur einmal beobachtete, oder weiter unten an irgend einer Stelle. Die weit oben liegenden Hodenzonen enthalten nur Spermatocyten, die weiter unten befindlichen die folgenden Stadien der Spermatogenese und die am weitesten unten liegenden vor allem fertige Spermien.

Niemals fand ich in einer Keimröhre mehr als eine Hodenzone, dagegen scheint sie mir in einer Anzahl von Fällen entweder in einer oder in beiden Keimröhren eines Tieres zu fehlen. In manchen Fällen beruht dies allerdings wohl darauf, daß die Schnittrichtung durch den betreffenden Keimröhrenabschnitt ungünstig verlief und die Spermatocyten in der Hodenzone gleichzeitig sich erst im Beginne ihrer Ausbildung befinden, so daß ich sie übersehen habe. In andern Fällen mag auch der die Samenbildungszone enthaltende Schnitt verloren gegangen sein. Einige Tiere bleiben aber übrig, bei welchen in einer oder in beiden Keimröhren die Hodenzone wirklich fehlt. In dem jüngsten mir zu Gesicht gekommenen Tier fand ich keine fertigen Spermien in den beiden Samenbehältern, wohl aber eine Hodenzone in jeder Keimröhre. In der einen liegen unterhalb (gegen die Geschlechtsöffnung hin) Eier, die sich deutlich in Degeneration befinden, in den andern zwei sich furchende Eier von normalem Aussehen. Da in den beiden Hodenregionen sich schon fertige Spermien befinden, so ist es möglich, daß einige von diesen zu den Eiern gelangten und diese befruchteten. Leider ist gerade dieses Präparat etwas verletzt. So möchte ich es daher noch nicht für festgestellt ansehen, daß, wie aus dieser einen Beobachtung hervorgehen würde, tatsächlich in der Keimröhre zuerst Ovocyten und dann Spermatocyten gebildet werden; es würde dies auch der

oben angeführten Beobachtung von Schneider widersprechen. Endgültige Ergebnisse hoffe ich zu erlangen, wenn es gelungen ist, jugendliche Stadien der zwittrigen Generation durch künstliche Infektion der Frösche heranzuziehen.

Die Individuen der parasitischen Generation verdienen also den Namen proterandrische Zwitter nicht, auch wenn wir davon absehen, daß, nach einer Beobachtung zu schließen, überhaupt zuerst Eier gebildet werden; sondern sie sind, kurz ausgedrückt, »alternierende Zwitter«, welche zuerst Spermien, dann Eier, darauf wieder Spermien und schließlich nochmals Eier erzeugen. Die nach den ersten Samenzellen gebildeten Eier werden von ersteren befruchtet, und wenn allmählich dadurch die Spermien nahezu aufgebraucht sind, ist der unterdessen oben entstandene zweite Satz von Samenzellen nachgerückt und füllt das Receptaculum wieder auf, damit auch die oberhalb der Hodenzone liegenden Eier befruchtet werden können. Wie oft diese abwechselnde Bildung der beiden Geschlechtszellenarten sich wiederholt, ob sich überhaupt ein drittes Mal Spermien bilden, kann ich nicht sicher sagen. Es wird das von der Menge der Eier abhängen, welche von einem Tier erzeugt werden. Da sie als Parasiten im Gegensatz zu der freilebenden Generation zweifellos recht viele Eier bilden, und da ich auch in den allergrößten Tieren zuweilen eine junge Hodenzone noch sehr weit oben in der Keimröhre fand, ist es allerdings sehr wahrscheinlich, daß mehr als zweimal Spermien gebildet werden[1]).

b) Erste Entstehung der Samenbildungszone.

Ein einziges Mal fand ich die Hodenzone unmittelbar unterhalb der Synapsiszone (Fig. 1). An die Kerne der letzteren (Syn.) schließen sich andre an, in denen der synaptische Knäuel sich auflöst, worauf dann weiter unten, aber nur auf der einen Seite (der linken in der Abbildung) Kerne folgen, welche an Größe nur unerheblich zugenommen haben, sich aber dadurch deutlich unterscheiden, daß sie neben dem Nucleolus und den

---

[1]) Anmerkung während der Korrektur: Erst nachträglich wurde mir die Arbeit von F. A. Pott ("Notes on the free-living nematodes", Quart. Journ. micr. sc., Vol. LV, 1910) bekannt, welcher unter anderm auch die Zwitterdrüse einiger freilebender Nematoden beschrieb. Während *Rhabditis sechellensis* und *Diplogaster maupasi* nur einmal und zwar zuerst Spermien bilden und danach nur noch Eier, werden bei *Rhabditis gurneyi* mehrmals abwechselnd Eier und Samenzellen hervorgebracht, und zwar konnte sich Pott davon überzeugen, daß zuweilen zuerst Eier und nachträglich erst Spermien erzeugt werden. *Angiostomum nigrovenosum* verhält sich also wie dieser freilebende Nematode, und der alternierende Hermaphroditismus kann nicht ausschließlich als Folge des parasitischen Lebens betrachtet werden.

schwach färbbaren Chromatinfäden ein oder zwei stark färbbare kleine Chromosomen enthalten (*Sp.c*). Da die letzteren öfters als ein Kennzeichen der Spermatocyten erwähnt werden müssen, so will ich sie schon jetzt als Heterochromosomen bezeichnen. Daß die Kerne mit diesen Heterochromosomen wirklich Spermatocyten erster Ordnung sind, geht aus ihrem weiteren Schicksal einwandfrei hervor. Sie liegen in einem Plasma, in dem Zellgrenzen nicht oder nur undeutlich zu erkennen sind und welches sich sowohl bei Anwendung von Eisenhämatoxylin und einer Gegenfarbe, wie in Hämatoxylin-Pikrokarmin-Präparaten stets hell färbt und zwar in letzteren rötlich. Ihnen gegenüber auf der andern Seite der Keimröhre (der rechten in der Abbildung) liegen Kerne (*Ov.*), welche durchschnittlich größer sind als die Spermatocytenkerne, auch einen umfangreicheren Nucleolus besitzen und eine ganz andre Chromatinverteilung zeigen, nämlich eine solche, die wir als charakteristisch für die heranwachsenden Ovocytenkerne oben kennen gelernt haben. Es handelt sich hier tatsächlich auch um solche; sie liegen in viel dunkler färbbarem, in Hämatoxylin-Pikrokarmin-Präparaten blau bis violett erscheinendem Plasma. Durch diese verschiedene Färbbarkeit des Plasmas heben sich die beiden Regionen scharf und deutlich voneinander ab. Nach unten in der Keimröhre folgen dann ausschließlich Ovocytenkerne, die auch schon weiter herangewachsen sind. Nach oben zu gehen sowohl die Spermato- wie die Ovocytenkerne ganz allmählich in die Kerne der Synapsiszone über, und gegen die letztere hin wird auch die Färbbarkeit des Plasmas gleichartig. Der Spaltraum zwischen der Ovocyten- und der Spermatocytenregion scheint auf einer Schrumpfung des Plasmas zu beruhen oder wenigstens dadurch verbreitert worden zu sein.

Wir haben also hier die jüngste Anlage einer Hodenzone kennen gelernt. Spermatocyten und Ovocyten differenzieren sich aus den indifferenten Zellen der Synapsiszone.

Etwas ältere Samenbildungszonen liegen dann etwas weiter von der Synapsiszone entfernt und von dieser durch eine kürzere oder längere Säule von Ovocyten getrennt. Offenbar infolge von Verschiebungen während der Wanderung nimmt nun die Hodenanlage die ganze Breite der Keimröhre ein, ist aber anfangs noch von den oberhalb und unterhalb gelegenen Ovocyten durch eine ganz unregelmäßig verlaufende Fläche abgegrenzt. Später ist die Trennungsfläche eine quer zur Längsrichtung verlaufende Ebene. Solche etwas ältere Hodenzonen enthalten weit mehr Kerne, was wohl darauf beruht, daß viel mehr Spermatocyten aus der Synapsiszone entstehen, als in der in Fig. 1 abgebildeten Anlage schon geschehen ist. Es ist aber auffallend, daß die Kerne schon weiter unten gelegener Hoden-

zonen zuweilen noch nicht soweit ausgebildet sind als die in Fig. 1 gezeichneten, indem sich in ihnen die Heterochromosomen noch nicht entwickelt haben.

c) Ausgebildete Hodenzonen.

Eine fertige Hodenanlage ist in Fig. 2 abgebildet; sie ist von der Synapsiszone schon ein beträchtliches Stück entfernt. Oberhalb und unterhalb von ihr liegen Ovocytenkerne in dunklem Plasma, welche weiter herangewachsen sind, einen sehr großen Nucleolus enthalten und die charakteristische Chromatinverteilung zeigen. In der unteren Ovocytensäule sieht man die Furchen, welche die Zellkörper voneinander abgrenzen, doch hängen alle Zellen mit der Rhachis zusammen, was aber auf der Abbildung nicht zu sehen ist. In der Hodenzone liegen teils Kerne mit einem oder zwei Heterochromosomen, teils Kerne, in welchen schon alle Chromosomen ausgebildet sind. Am oberen Ende der Samenbildungszone sieht man Kerne, von welchen man nicht sagen kann, ob sie zu Spermatocyten oder zu Ovocyten gehören (*Üz.*). Alle möglichen Übergangsformen verbinden also die Spermatocytenkerne mit den Ovocytenkernen, und zwar liegen sie an der Stelle, wo das helle Plasma in das dunkle übergeht. Die Zone mit diesen Zwischenformen nenne ich die Übergangsregion. Es findet sich eine solche auch öfters an der unteren Grenze der Hodenzone, aber nie so deutlich ausgeprägt wie an der oberen.

Eine solche theoretisch zweifellos sehr interessante Übergangsregion ist in Fig. 7 bei derselben Vergrößerung gezeichnet, wie die Mehrzahl der Abbildungen von einzelnen Kernen. Die Abbildung zeigt einen Teil eines Längsschnittes durch die obere Grenze zwischen der Hodenzone und der Ovocytensäule; links sieht man das Epithel der Keimröhre. Unten liegen Spermatocytenkerne (*Spc.*), zu erkennen an ihrer geringen Größe — sie sind im Durchmesser stets etwa 6—6,5 μ groß —, an den eben erscheinenden Heterochromosomen und an der hellen Färbung des Plasmas, in welchem sie liegen. Ganz oben dagegen sieht man einen typischen Ovocytenkern (*Ov.*) in dunklem Plasma. Verfolgt man die Kerne in der Übergangsregion von den Spermatocyten zu den Ovocyten, so bemerkt man eine allmähliche Größenzunahme derselben und ihres Nucleolus. Das Chromatin geht dabei von einer Verteilung in fädiger Form in die mehr unregelmäßigen Stränge über, die man in Ovocytenkernen findet. Die Änderung des Chromatinzustandes geht aber der Größenzunahme des Kernes nicht ganz parallel und ebenso verhält es sich mit der Vergrößerung des Umfanges des Nucleolus. Außerdem erkennt man, daß einzelne Kerne der

Übergangsregion in einem Plasmabezirk liegen, welcher auf der einen Seite von ihnen dunkel, auf der andern hell gefärbt ist. Die Bedeutung dieser Übergangsregion soll unten besprochen werden.

d) Ältere Hodenzonen.

Während die Hodenzonen mit dem gesamten Inhalt der Keimröhren abwärts wandern, wachsen die oberhalb und unterhalb von ihnen gelegenen Ovocyten natürlich weiter heran, so daß der Größenunterschied zwischen den Ovocyten- und den Spermatocytenkernen immer beträchtlicher wird. Die Veränderung der letzteren besteht unterdessen darin, daß in ihnen die Chromosomen allmählich immer vollständiger sich ausbilden. Dabei sind im allgemeinen die unteren Spermatocyten den oberen voraus.

Das Gesamtbild der Hodenzonen wird aber jetzt ein andres. Die Übergangsregion an ihrer oberen Grenze wird immer weniger auffallend, bis schließlich fertig entwickelte Spermatocyten unmittelbar an typische große Ovocyten anstoßen. Dagegen entsteht an ihrer unteren Grenze jetzt ebenfalls eine Übergangsregion, in welcher wir ebenfalls alle Zwischenformen zwischen Spermatocyten und Ovocyten finden, und welche sich von der früher vorhandenen oberen dadurch unterscheidet, daß sie viel länger ist als die eigentliche Hodenzone. Da ihre Zellen auch ein ganz andres Schicksal haben als die der oberen Übergangsregion, so nenne ich sie anders, nämlich Degenerationsregion.

Ein solches Stadium der Hodenentwicklung zeigt Fig. 3 bis 5. Vor der genaueren Besprechung dieser Abbildungen möchte ich einige Bemerkungen vorausschicken, die zur allgemeinen Orientierung über dieselben dienen sollen. Der gesamte Keimröhrenabschnitt ist in drei Teile zerlegt, damit er bei stärkerer Vergrößerung wiedergegeben werden kann. Fig. 3 zeigt die obere Grenze der Hodenzone, oberhalb davon Ovocyten, unterhalb Spermatocyten. An den Rand *a* schließt sich der Rand *b* in Fig. 4 an, doch ist zwischen beiden ein Stück der die Spermatocyten enthaltenden Region ausgelassen, selbstverständlich deshalb, weil der ganze in Betracht kommende Keimröhrenabschnitt bei der angewandten Vergrößerung sehr lang ist. Oben in dieser Figur sieht man Spermatocyten, auf welche nach unten zu die sehr lange untere Übergangsregion folgt, welche wir Degenerationsregion genannt haben. Diese setzt sich in Fig. 5 fort, doch ist zwischen den Rändern *c* und *d* wieder ein Stück ausgelassen. In der Mitte der Fig. 5 sieht man schließlich, daß auf die Degenerationsregion nach unten zu wieder normale Ovocyten folgen.

Sehen wir uns Fig. 3 bis 5 genauer an: Ganz oben (in Fig. 3) liegen Ovocyten, die vollkommen voneinander getrennt scheinen, doch hängen

alle mit der Rhachis zusammen ebenso wie unten in Fig. 5, nur ist dieselbe in diesem Teile des Schnittes nicht getroffen. Zwischen den Ovocyten und der folgenden Region von Spermatocyten findet sich ein Spalt, der häufig an dieser Stelle in älteren Hodenzonen zu sehen ist. Die Spermatocyten sind alle etwa gleichweit ausgebildet, da man in fast allen Kernen ein Heterochromosom sieht; man beachte dabei, daß in der jüngeren, in Fig. 2 abgebildeten Hodenzone die Spermatocyten schon weiter entwickelt sind, indem in sehr vielen schon alle Chromosomen ausgebildet sind. Es scheint also, daß die Spermatocyten ihre Entwicklung bald rascher, bald langsamer durchlaufen. In der Region der Spermatocyten sieht man nun an manchen Stellen deutliche Zellgrenzen. Oben in Fig. 4 liegen noch Spermatocyten. Übergehen wir zunächst die am rechten Rande liegenden, dunklen Zellen, welche später besprochen werden sollen, so sehen wir beim Fortschreiten nach unten die Kerne und ihren Nucleolus ganz allmählich an Größe zunehmen. Ganz gleichförmig ist diese Größenzunahme nicht, da zwischen größeren Kernen zuweilen auch kleinere liegen. Auch in Fig. 5 sieht man immer größere Kerne folgen, und was in dem zwischen beiden Abbildungen ausgelassenen Stück der Keimröhre liegt, vermittelt den Übergang zwischen den Kernen unten in Fig. 4 und oben in Fig. 5. Schließlich gelangen wir gegen das untere Ende der letzteren Abbildung wieder zu typischen Ovocyten, die natürlich beträchtlich älter und daher auch größer als die oberhalb der Hodenzone gelegenen sind. Was das Plasma betrifft, so liegen die ersten auf die ausgebildeten Spermatocyten folgenden Kerne der Degenerationsregion noch ebenso wie die ersteren in hellgefärbtem Plasma und zwar in dem Syncytium. Die Zellkörper der nach unten zu folgenden Übergangskerne sind voneinander isoliert und hängen auch nicht mit der Rhachis zusammen; ihr Plasma ist dunkel gefärbt wie das der Ovocyten. Die Größe des Zellkörpers schwankt ganz bedeutend; es finden sich Zellen, welche wie kleine Eier aussehen (*Z* 1), solche von mittlerer Größe (*Z* 2) und schließlich Kerne, um welche das Plasma nur noch eine ganz dünne Schicht bildet (*Z* 3). Dabei ist deutlich zu erkennen, daß die Menge des Plasmas der Größe des Kernes nicht entspricht; ja, wenn man nur nach diesen Abbildungen urteilen wollte, so käme man zu der Ansicht, daß die größeren Kerne weniger Plasma besitzen als die kleineren, wie ein Vergleich der Kerne vom unteren Ende der Fig. 4 mit denen vom oberen Ende der Fig. 5 zeigt. Doch lehren Beobachtungen an andern solchen Hodenzonen, daß dies nicht regelmäßig der Fall ist. Etwa in der Mitte der Fig. 5 bilden dann die Zellen wieder ein Syncytium, in welchem die Kerne sehr dicht beieinander liegen, worauf sie dann weiter nach unten allmählich zu der für Ovocytenkerne charakteristischen Anordnung über-

gehen. Man sieht nun ferner in der Degenerationsregion zwischen den Zellen isolierte, kernlose Plasmaklümpchen (*Pl*, Fig. 4) und außerdem am unteren Ende der Degenerationsregion einen in der Mitte der Keimröhre verlaufenden Strang, welcher nach oben zu (in dem nicht abgebildeten Stück dieser Region) endet, nach unten zu in das Plasma der Ovocyten übergeht und in seiner Mitte eine Streifung zeigt (Fig. 5, *Rh*). Es kann kein Zweifel bestehen, daß diese Bildung ein Rest eines früher an dieser Stelle vorhanden gewesenen Abschnitts der Rhachis ist. Es liegen ihr ganz kleine, kernlose Plasmaklümpchen an.

Um den Bau der Kerne einer solchen Degenerationsregion genauer kennen zu lernen, werfe man einen Blick auf Fig. 51 bis 56, in welchen alle Übergangsformen in der Richtung von Ovocyten zu Spermatocyten aus einer einzigen Degenerationsregion bei gleicher Vergrößerung gezeichnet wurden. Fig. 51 zeigt eine Zelle, welche man zweifellos als Ovocyte im Wachstumsstadium bezeichnen muß, und welche auch noch mit der Rhachis im Zusammenhang steht, was aber auf der Abbildung nicht zu erkennen ist. Ihr Kern steht hinsichtlich seiner Größe etwa in der Mitte zwischen den beiden in Fig. 29 und 30 abgebildeten Keimbläschen; ihr Chromatin ist in dem großen Kernraum in Form von unregelmäßig gestalteten Strängen angeordnet und läßt um den sehr großen, kugeligen, stark färbbaren Nucleolus einen hellen Hof frei, was auf einer Schrumpfung des Kerninhalts beruhen kann. Im Plasma ist noch kein Dotter aufgetreten. Weiter gegen die Spermatocyten zu folgen ebenso aussehende Kerne, deren Zellkörper aber viel kleiner sind und mit der Rhachis nicht mehr zusammenhängen (Fig. 52). Die in Fig. 53 abgebildete Zelle enthält einen bedeutend kleineren Kern und Nucleolus, doch ist das Chromatin noch ganz ähnlich angeordnet. Zur Abbildung wurde diese Zelle gewählt, weil bei ihr wie bei manchen andern das Plasma deutlich in zwei verschieden gebaute Schichten geschieden ist, ohne daß diese Eigentümlichkeit aber als ein häufiges Vorkommnis hingestellt werden soll. Noch weiter gegen die Spermatocyten zu folgt die in Fig. 54 abgebildete Zelle, deren Zellkörper nicht kleiner ist, wohl aber im Kern einen viel kleineren Nucleolus enthält; auch sind die Chromatinstränge weiter ausgebildet. Fernere Übergangsformen zeigen Fig. 55 und 56; diesen können wir entnehmen, daß die Größe des Nucleolus derjenigen des Kernes durchaus nicht entspricht; denn beide Kerne sind etwa gleich groß, der eine enthält aber einen viel größeren Nucleolus als der andre; ferner zeigt ein Vergleich beider Abbildungen auch, daß Kerne gleicher Größe in Zellkörpern von sehr verschiedenem Umfange liegen können. Beide Tatsachen wurden oben schon festgestellt. Das

Chromatin in diesen Kernen ist ganz ebenso angeordnet wie in den jungen Spermatocyten erster Ordnung.

Auf die in Fig. 4 sichtbaren dunklen, degenerierenden Zellen am rechten Rande komme ich weiter unten im Zusammenhange zurück.

In derartigen älteren Hodenzonen gehen die Spermatocyten alsdann zu den Reifungsteilungen über; eine Gesamtansicht dieses Entwicklungsstadiums gibt Fig. 6. An die oberhalb der Hodenzone liegenden, schon sehr weit herangewachsenen Ovocyten stoßen unmittelbar Spermatocyten an; die in Fig. 2 und 7 abgebildete Übergangsregion ist also verschwunden, ebenso wie das aus Fig. 3 hervorging. Die Spermatocyten bilden kein Syncytium mehr; sie runden sich ab, so daß Lücken zwischen ihnen auftreten. In den oberen Spermatocyten (*Sp.c*) sind die Chromosomen meistens ausgebildet, die weiter nach unten liegenden gehen zur ersten Reifungsteilung (RT_1) über, daneben finden sich Stadien der zweiten Reifungsteilung (RT_2), Spermatiden (*Spd*) und Spermatozoen (*Sp*) nebst Restkörpern (*Rst*). Noch weiter nach unten zu folgt dann die hier nur teilweise abgebildete Degenerationszone; die Kerne derselben (*Z*) vermitteln nun nicht mehr den Übergang von Spermatocyten zu Ovocyten, denn auch die kleinsten von ihnen gleichen Ovocyten noch sehr. An der Grenze der eigentlichen Hodenzone und der Degenerationsregion liegen degenerierte Zellen (*Deg*), außerdem aber wieder einige mehr oder weniger weit ausgebildete Spermatocyten erster Ordnung, auch Stadien der ersten Reifungsteilung.

Einmal fand ich eine Keimröhre mit folgendem, abweichendem Verhalten: Auf eine Hodenzone, welche sich etwa auf dem in diesem Abschnitt beschriebenen Entwicklungszustand befand, folgte nach unten zu eine kurze Säule normaler Ovocyten, darauf eine ziemlich lange Degenerationszone und dann wieder Ovocyten. Die Kerne dieser Degenerationszone gingen allmählich nach beiden Seiten in die Ovocytenkerne über.

e) Älteste Hodenzonen.

In denjenigen Samenbildungszonen, welche sich schon dem Receptaculum genähert haben, sind aus allen Spermatocyten fertige Spermien entstanden. Sie bestehen daher nur aus einer Zone von fertigen Samenzellen, welche dicht zusammengedrängt liegen. Zwischen ihnen findet man die Restkörper, aber spärlicher als man erwarten sollte, was darauf zu beruhen scheint, daß sie sich während des Hinabgleitens der Hodenzone zwischen die Ovocyten verschoben haben. Oberhalb stoßen an die Samenzellen sehr große Ovocyten an, nach unten folgt eine ganz kurze Degenerationszone; deren Zellen tragen alle deutliche Anzeichen davon, daß sie

zugrunde gehen. Weiter folgt dann natürlich wieder eine Säule normaler Ovocyten.

Diese ältesten Hodenzonen sind alle ziemlich kurz. Das beruht erstens darauf, daß ihre Degenerationszone durch Verkleinerung, Degeneration und Zusammendrängung ihrer Zellen, wohl auch durch Verschieben derselben zwischen die benachbarten Ovocyten sich stark verkürzt hat. Zweitens hat sich auch eine erhebliche, wahrscheinlich sogar die größere Menge von Spermien zwischen die Ovocyten verschoben, wo man sie in kleineren oder größeren Gruppen vereinigt findet. Zieht man diese zerstreuter liegenden Spermien in Betracht, so ergibt sich eine weit größere Zahl, als es nach dem ersten Blick auf eine Hodenzone dieses Alters erscheint. In demjenigen Teil der Keimröhren, in welchem die Ovocyten losgelöst von der Rhachis zu zweien nebeneinander oder einzeln hintereinander liegen, habe ich (abgesehen von dem jüngsten auf S. 98 beschriebenen Tier) überhaupt niemals eine Hodenzone getroffen; hier haben sich alle Samenzellen sowohl, wie die Restkörper und die zugrunde gehenden Zellen in die Lücken zwischen die Ovocyten verschoben und wandern so das letzte Ende der Keimröhre hinab bis ins Receptaculum.

f) Degenerierende Zellen.

Es sollen hier die im vorstehenden mehrfach erwähnten degenerierenden Zellen im Zusammenhang besprochen werden. Solche finden sich in denjenigen Hodenzonen, unterhalb welcher die sogenannte Degenerationsregion sich gebildet hat, aber nicht in jüngeren Samenbildungszonen. Man findet die degenerierenden Zellen anfangs meistens an einer Seite der Keimröhre, etwa an der Grenze zwischen der Region von Spermatocyten und der Degenerationszone. In den ältesten Hodenzonen tragen alle Zellen zwischen den Spermatocyten und den unteren Ovocyten deutlich alle Zeichen von Degeneration. Es werden aber der zugrunde gehenden Zellen immer weniger; einige der Gründe hierfür sind oben schon angeführt, vielleicht werden die Zellen auch vollkommen aufgelöst und resorbiert.

Ohne daß ich den Degenerationsvorgang genau beschreiben will, möchte ich nur erwähnen, daß er sowohl Kerne mit wenig, als auch solche mit viel Plasma befällt. Stets färbt sich das Chromatin immer dunkler, bis der ganze Kernraum eine dunkelfärbbare Masse bildet, in welcher man noch den Rest des Nucleolus erkennt. Wo Plasma vorhanden ist, nimmt dieses eine ebensolche dunkle Farbe an (Fig. 57).

Manchmal liegen zwei degenerierende Kerne dicht aneinander, gerade so als ob sie durch direkte Teilung aus einem Mutterkern entstanden seien (Fig. 58); meistens fehlt solchen Doppelkernen das Plasma nahezu oder

vollständig. Die beiden Nucleolen schnüren offenbar eben einen kleinen Teil ihrer Substanz ab, und ihr Chromatin zeigt den Beginn der Degeneration durch seine dunkle Färbung, was im Präparat besser hervortritt als auf der Abbildung. Solche Doppelkerne trifft man nicht selten, da ich aber niemals Kerne fand, welche gerade im Begriffe waren sich durchzuschnüren oder in welchen sich der Nucleolus eben teilt, so kann es sich nicht um amitotische Teilung handeln; vielmehr sind diese Doppelkerne dadurch entstanden, daß sich zwei dicht aneinander legten, und man findet auch alle Stadien dieses Vorgangs.

Noch merkwürdiger sind andre, zweifellos ebenfalls zugrunde gehende Zellen, welche sich in der Degenerationszone finden und in eine Vacuole ihres Plasmas eine oder zwei Samenzellen aufgenommen haben (Fig. 59). Wie diese an den genannten Ort gelangt sind, ob passiv oder aktiv, blieb mir unbekannt. Solche Vorkommnisse sind aber so selten, daß es ausgeschlossen ist, daß es sich dabei um einen regelmäßigen Vorgang zur Ernährung der Spermien handelt.

g) Zusammenfassung und Allgemeines über die Entstehung der Ovocyten und Spermatocyten in den Keimröhren.

In den vorhergehenden Abschnitten habe ich die Entwicklungsstadien der Samenbildungszonen möglichst objektiv geschildert und möchte nun gleich im Anschluß daran versuchen, eine Erklärung für alle beobachteten Erscheinungen zu geben.

Die Spermatocyten erster Ordnung entstehen mindestens zum größten Teil aus denjenigen Zellen, welche soeben das Synapsisstadium durchlaufen haben; diese Zellen wachsen nur sehr wenig heran; alsdann erscheint in ihnen das erste Heterochromosom, woran man die Spermatocyten stets mit Sicherheit erkennt. Ich fand zwar nur einmal diese erste Anlage des Hodens, aber diese eine Beobachtung genügt zum Beweis des Gesagten auch vollständig. Aus den gleichen Zellen der Keimröhre wie die Spermatocyten entstehen aber auch die Ovocyten und zwar dadurch, daß diese Zellen in eine lang andauernde Wachstumsperiode eintreten. Daher kann man die Zellen der Keim- und Synapsiszone als indifferente Keimzellen ansehen, welche sich erst nach der Synapsis in männliche oder in weibliche differenzieren. Man kann aber auch die Zellen der Keimregion als Ovogonien und die der Synapsisregion sowie die unmittelbar darauffolgenden als junge Ovocyten erster Ordnung auffassen, indem man annimmt, daß die weiblichen Keimzellen auf einem frühen Stadium sich in männliche umdifferenzieren können. Obwohl ich die Berechtigung der ersten Auf-

fassung nicht bestreiten will, habe ich doch bei der Namengebung die zweite vertreten und zwar aus folgenden Gründen: Die hermaphroditischen Individuen von *Angiostomum* sind nach dem Bau ihres Somas durchaus Weibchen; daß sie in ihren Keimröhren neben Eiern auch Spermien bilden, erscheint als etwas ganz Sekundäres; daher mag es auch nicht unangebracht erscheinen, ihre Keimdrüse Ovarium zu nennen und die Zellen darin Ovogonien und junge Ovocyten, so lange letztere noch nicht durch ihr weiteres Schicksal bekunden, daß sie zu männlichen Keimzellen werden. Auch Maupas und Schneider wählten diese Bezeichnung. Außerdem entstehen aus der Synapsiszone hauptsächlich Ovocyten, wie daraus hervorgeht, daß ich nur einmal die Hodenzone unmittelbar im Anschluß an die Synapsiszone fand. Vermutlich werden etwa viermal so viel Ovocyten als Spermatocyten gebildet; die Zahl der Spermien reicht dann zur Befruchtung aller Eier aus und es entsteht sogar ein Überschuß an Spermien dadurch, daß, wie wir sehen werden, ein Teil der Ovocyten degeneriert. Doch kann ich mich über das Zahlenverhältnis der beiden Keimzellenarten nicht bestimmt äußern. Schließlich glaube ich deshalb den Ursprung aller Keimzellen der zwittrigen Generation von weiblichen Zellen annehmen zu sollen, weil alle Ovogonien eine Chromosomenzahl besitzen, welche für das weibliche Geschlecht als typisch angesehen werden muß; darauf komme ich im theoretischen Teil zurück.

Was bedeuten aber jene Zwischenformen von Zellen bzw. Kernen, welche wir in den sogenannten Übergangsregionen jüngerer Hodenzonen und in der sogenannten Degenerationsregion unterhalb der älteren Samenbildungszonen antrafen? Eine sichere Erklärung hierfür zu geben ist nicht so leicht, als es anfangs scheint.

Die Zwischenformen, welche die Spermatocyten mit den Ovocyten in der Degenerationsregion verbinden, bereiten einer Erklärung geringere Schwierigkeiten. Es kann kaum bezweifelt werden, daß sie aus normalen Ovocyten der Wachstumszone durch Verkleinerung des Zell- und Kernvolumens hervorgegangen sind. Dieser Verkleinerungsvorgang ergreift zunächst die unmittelbar an die Spermatocyten anstoßenden Ovocyten und schreitet dann nach unten in der Keimröhre fort; es muß so eine mehr oder weniger lange Zone von Zellen entstehen, die oben am kleinsten und unten noch am größten sind, so wie man das tatsächlich auch findet. Dabei lösen sich die Zellen von der Rhachis los, die eine Zeitlang dann noch erhalten bleibt. Allerdings könnte man auch annehmen, daß die Kerne der Degenerationszone sich nicht verkleinert haben, sondern auf einem früheren Wachstumsstadium stehen blieben, und zwar die oberen auf einem früheren als die unteren; auch so muß dann eine derartige Zone

von Zwischenformen zwischen den kleinen Spermatocyten und den großen Ovocyten zustande kommen. Daß sich das aber nicht so verhält, sondern daß die Ovocyten der Degenerationszone sich wirklich verkleinert haben, glaube ich aus folgenden Tatsachen schließen zu müssen: Erstens liegen die Kerne der Degenerationszone viel dichter beisammen, haben also auch viel weniger Plasma als die gleich großen normalen Ovocytenkerne; da in der ganzen in Betracht kommenden Region der Keimröhre keine Kernteilungen vorkommen, so kann das nur dadurch zustande kommen, daß die zu jedem Kern gehörende Plasmamenge vermindert wird; ich komme darauf unten zurück. Wenn also der Zellkörper der Ovocyten sich verkleinern kann, so ist es nicht unwahrscheinlich, daß dasselbe auch mit dem Kern geschehen kann. Zweitens fanden wir in ziemlich kleinen Kernen der Degenerationsregion zuweilen einen unverhältnismäßig großen Nucleolus; es ist wahrscheinlicher, daß dies darauf beruht, daß der Kern sich verkleinerte, der Nucleolus aber nicht oder nicht im gleichen Maße, als darauf, daß der Ovocytenkern klein blieb, der Nucleolus aber den ganz abnormen Umfang annahm. Und schließlich kennt man die Größenabnahme von Ovocyten auch bei andern Tieren; Kühn (1908) hat beschrieben, daß sich die Nährzellen und ihre Kerne in den Ovarien der Cladoceren in ähnlicher Weise verkleinern.

Den Vorgang der Verkleinerung der Ovocyten in der Degenerationsregion kann man natürlich nicht unmittelbar beobachten. Die Abnahme der Plasmamenge verläuft beinahe so, als ob die Keimröhrenwand im Bereich der Degenerationsregion siebartig durchlöchert wäre, so daß das Plasma herausfließt, während die Kerne zurückbleiben. Selbstverständlich soll das nur ein roher Vergleich sein; in Wirklichkeit wird das Plasma wohl verflüssigt und in diesem Zustande aus der Keimröhre in die Leibeshöhle ausgeschieden oder auch innerhalb der ersteren an andre Stellen hingeschafft. Von diesem ganzen Vorgang ist aber nichts als das Ergebnis zu sehen. Daß gleichzeitig die Zellen sich von der Rhachis loslösen und so isoliert werden, auch kernlose Teile des Plasmas dabei abgeschnürt werden, geht schon aus dem früher Gesagten hervor. Bei der Größenabnahme des Kernes tritt auffallenderweise kein Chromatin in nachweisbarer Form in das Plasma aus, während ein solcher Vorgang neuerdings sehr oft beschrieben wurde; die Annahme, daß das Chromatin verflüssigt wird und in diesem Zustande aus dem Kern austritt, hat aber nichts Unwahrscheinliches an sich. Auch der Nucleolus nimmt an Größe ab, ohne daß man die abgegebene Substanz im Kernraum oder im Plasma nachweisen kann; höchstens schnürt sich einmal ein kugeliges Körperchen von ihm los (Fig. 58). Etwa gerade so nimmt der Nucleolus aber auch in normalen

Ovocyten am Ende der Wachstumszone an Volumen ab, und zwar in noch viel stärkerem Grade.

Die Bedeutung der Degenerationszone ist nicht ganz klar. Man könnte vermuten, daß die sich verkleinernden Ovocyten nachträglich zu Spermatocyten werden; das kann aber mindestens für die Mehrzahl der in der Degenerationszone vorhandenen Zellen nicht zutreffend sein. Denn letztere entwickelt sich dann erst in besonders langer Ausdehnung, wenn die Spermatocyten sich zur ersten Reifungsteilung vorbereiten. Sobald diese aber einmal vor sich geht, findet man wenigstens am unteren Ende der Hodenzone keine oder nur noch wenige junge Spermatocyten, das heißt solche, in denen die Chromosomen noch nicht ausgebildet sind; und außerdem tragen dann und namentlich später die sich verkleinernden Ovocyten alle Anzeichen einer beginnenden Degeneration an sich. Selbstverständlich können diese Zellen auch keine nachträglich heranwachsenden Spermatocyten sein, da sonst die eigentliche Hodenzone an Kernen ganz verarmt sein müßte.

Der Erfolg der Verkleinerung der Zellen und Kerne in der Degenerationszone ist natürlich, daß alles, was oberhalb in der Keimröhre liegt, also vor allem die Hodenzone, rasch nach unten nachrückt; das kann natürlich nicht die eigentliche Bedeutung des Vorgangs sein. Außerdem wird dabei die Zahl der Eier, die schließlich entstehen könnten, erheblich vermindert.

Es ist am wahrscheinlichsten, daß die sich verkleinernden Ovocyten als Nährzellen für die Spermien dienen. Allerdings ist auffallend, daß so viel Material zu diesem Zwecke freigemacht wird; die Degenerationsregion ist nämlich viel länger als die Zone der Spermatocyten. Außerdem gibt es in den Hodenröhren getrenntgeschlechtlicher Nematoden keine solchen Nährzellen. Daher kann die Auffassung der Zellen der Degenerationsregion als Nährzellen der Spermien nur eine vorläufige Hypothese sein, welche durch Untersuchungen an andern Nematodenzwittern geprüft werden muß.

Eine andre Bedeutung haben zweifellos jene in Größe und Aussehen zwischen Spermato- und Ovocyten stehenden Zellen, welche sich in den sogenannten Übergangsregionen jüngerer Hodenzonen finden. Die untere Übergangsregion läßt sich nicht so gut verfolgen, wie die obere, da sich an sie die später entstehende Degenerationszone anschließt. Doch müssen auch für sie die Überlegungen gültig sein, welche im folgenden hinsichtlich der oberen Übergangsregion entwickelt werden.

Die Zellen dieser Übergangsregion bleiben als Zwischenformen zwischen Spermato- und Ovocyten nicht erhalten, da später unverkennbare Spermatocyten unmittelbar an stark herangewachsene Eier angrenzen. Sie degenerieren auch nicht, da ich an ihrer Stelle nie zugrunde gegangene

Zellen beobachtete. Daher müssen sie entweder zu Ovocyten oder zu Spermatocyten geworden sein.

Anfangs glaubte ich, daß man aus dem vorübergehenden Vorhandensein der Übergangsformen zwischen Spermatocyten und Ovocyten notwendig schließen müsse, daß die ersteren nicht nur aus ganz jungen, sondern auch aus schon mehr oder weniger weit herangewachsenen Ovocyten durch Größenabnahme entstehen. Ich glaube auch jetzt noch, daß es sich tatsächlich so verhält, denn mehrere Tatsachen sprechen für diese Anschauung. Erstens haben wir ja gesehen, daß in der Degenerationsregion Ovocyten sich wirklich verkleinern können; zweitens finden wir (Fig. 6) an der Stelle der oberen Übergangsregion, wenn die Samenreifungsteilungen im Gange sind, die noch am wenigsten weit entwickelten Spermatocyten und ferner liegen zu gleicher Zeit auch an der Stelle der unteren Übergangszone einige noch nicht weit entwickelte Spermatocyten. Das spricht natürlich sehr dafür, daß diese sich später als die andern, also nachträglich aus Ovocyten gebildet haben. Wenn diese Umbildung von schon etwas herangewachsenen Eiern in Samenzellen wirklich eintritt, so kann sie aber nur verhältnismäßig wenig Zellen betreffen; denn sonst müßte man feststellen können, daß die älteren Hodenzonen mehr Kerne als die jüngeren enthalten. Diese Feststellung ist aber nicht zu machen, vielmehr scheint die Zahl der Kerne in den Hodenzonen zu variieren. Daher kann ich die Auffassung auch nicht sicher widerlegen, daß der umgekehrte Entwicklungsvorgang besteht, d. h. daß junge Spermatocyten, bevor sie sich durch das Auftreten ihrer Heterochromosomen in männlicher Richtung specialisiert haben, nachträglich noch durch Eintritt in die Wachstumsphase zu Ovocyten umbilden können. Auch diese Frage kann also hier nicht endgültig entschieden werden, sondern es müssen die Ergebnisse vergleichender Untersuchungen an andern Nematodenzwittern abgewartet werden.

Aber ein sicheres Ergebnis scheint mir doch aus diesen Beobachtungen hervorzugehen, daß nämlich an der Grenze der Hodenzonen gelegene Zellen nachträglich sich umbilden können. Entweder wandeln sich schon herangewachsene Ovocyten in Spermatocyten um, was das Wahrscheinlichere ist, oder es wachsen Zellen, die durch Verharren auf ihrem ursprünglichen Größenstadium die Tendenz zeigten, männliche Keimzellen zu werden, nachträglich zu Ovocyten heran. Die theoretische Bedeutung dieses Ergebnisses wird später besprochen werden.

h) Vergleich mit andern Zwittern.

Ähnlich wie bei *Angiostomum* liegen die Verhältnisse bei den hermaphroditischen Pulmonaten, da auch hier in ein und derselben Keimdrüse

und von ein und demselben Mutterboden aus Eier und Samenzellen entstehen. Durch eine ausführliche Untersuchung von Ancel (1903) sind wir darüber unterrichtet, wie bei *Helix pomatia* die beiden Keimzellenarten genetisch zusammenhängen. Die Blindsäcke der Zwitterdrüse sind mit einer einschichtigen Zellage ausgekleidet, aus welcher männliche und weibliche Keimzellen sowie Nährzellen hervorgehen. Einige Zellen dieser Wandschicht vergrößern sich, und ihr Chromatin nimmt eine andre Verteilung an; dadurch entstehen »progerminative, indifferente Zellen«. Diese wandeln sich besonders durch Zunahme des Kernumfangs in »männliche progerminative Zellen« um, welche zwei Vermehrungsteilungen durchmachen, so daß zwei Generationen von Spermatogonien entstehen; die zweite tritt in ein Wachstumsstadium ein und wird damit zu Spermatocyten. Die übrigen Zellen der Follikelwand ordnen sich unterdessen in zwei Schichten an; aus der inneren gehen Nährzellen hervor, und wenn das geschehen ist, so wandeln sich die Zellen der äußeren Schicht zuerst in »indifferente, progerminative Zellen« um und werden dann hauptsächlich durch Vergrößerung ihres Zelleibs zu Ovocyten erster Ordnung; es tritt aber vorher keine Zellteilung ein, so daß man Ovogonien nicht unterscheiden kann.

Den indifferenten Epithelzellen des Ovariums von *Helix* könnte man die Zellen in der Keimzone der zwittrigen Generation von *Angiostomum* vergleichen. Doch glaube ich, wie gesagt, diese eher als weibliche Urkeimzellen ansehen zu sollen ebenso wie die Zellen der Synapsiszone als junge Ovocyten, die sich sekundär in Spermatocyten umwandeln können. Es ist ja auch mindestens nicht ausgeschlossen, daß in der sogenannten Übergangsregion der Hodenzone Zellen, welche durch den Eintritt in die Wachstumsphase als unzweifelhafte Ovocyten gekennzeichnet sind, sich nachträglich noch in Spermatocyten umbilden. Diese Auffassung wird, wie ich oben ausführte, dadurch gestützt, daß unser Tier seinem ganzen Bau nach ein Weibchen ist und nur durch die in ihm entstehenden Samenzellen zu einem Zwitter gestempelt wird, während *Helix pomatia* sozusagen ein vollkommenerer Hermaphrodit ist, welcher nicht nur beide Geschlechtszellenarten in seiner Keimdrüse hervorbringt, sondern auch sowohl männliche wie weibliche Ausführwege der Genitalorgane besitzt. Ich möchte mich der Anschauung von Maupas (1900) anschließen, nach welcher die hermaphroditischen Nematoden aus rein weiblichen Individuen stammesgeschichtlich entstanden sind. Wie Maupas gezeigt hat, sind bei diesen Arten die Männchen offenbar verschwunden, oder kommen vielmehr bei den verschiedenen Arten in verschiedener, aber stets sehr geringer Anzahl als sogenannte Komplementärmännchen vor, welche nur noch bei ganz

wenigen Arten zur Begattung fähig sind. Allerdings beobachtete Maupas bei *Rhabditis elegans* auch Männchen, welche in ihren Samenröhren Eizellen bilden; es liegt hier vielleicht sozusagen ein Versuch vor, neben den Weibchen auch die Männchen zu Zwittern phylogenetisch umzubilden.

In den Fällen von accidentellem Zwittertum, welche man häufig bei Wirbellosen wie bei Wirbeltieren beobachtet hat, entstehen vielfach auch in der gleichen Keimdrüse Eier und Samenzellen; es frägt sich, in welchen genetischen Beziehungen hier die beiden Keimzellenarten zueinander stehen. Ich möchte auf die diesbezüglichen Angaben in der Literatur an dieser Stelle nicht weiter eingehen; es sei nur bemerkt, das Kuschakewitsch (1910) in seiner großen Arbeit über die Entwicklung der Keimdrüsen von *Rana esculenta* das gelegentliche Vorkommen von Eiern im Hodenparenchym der Frösche darauf zurückführt, daß einige Ovocyten als Reste des verschwindenden weiblichen Gewebes der »intermediären« Keimdrüse in jenes Embryonalgewebe zu liegen kommen, welches die Samenzellen hervorbringt. Es stammen also bei diesen Zwittern die beiden Keimzellenarten aus verschiedenen Quellen.

Dasselbe ist überhaupt die Regel für die große Mehrzahl der normalerweise zwittrigen Tiere, indem sich schon mehr oder weniger frühzeitig während der Embryonalentwicklung die Anlagen von Hoden und Ovarien sondern. Die Differenzierung findet also auf dem Stadium früher Urkeimzellgenerationen statt. Nach O. Hertwig (1880) entstehen bekanntlich bei *Sagitta* aus jeder der beiden ersten Urgeschlechtszellen bei ihrer Teilung je eine Ureizelle und eine Ursamenzelle. Die hermaphroditischen Tiere bilden also hinsichtlich des Zeitpunkts, in welchem sich die männlichen und weiblichen Keimzellen differenzieren, eine Reihe. An deren Anfang steht etwa *Sagitta*, an deren Ende die parasitische Generation von *Angiostomum*, indem hier die Spermatocyten aus Zellen entstehen, welche wir als Ovocyten aufgefaßt haben.

Falls es richtig ist, daß die freilebenden Nematodenzwitter, wie Maupas angibt, nur einmal Samenzellen bilden, so verlangt das abweichende Verhalten von *Angiostomum* eine Erklärung, die sich vielleicht aus der parasitischen Lebensweise desselben ergibt. Maupas hat nämlich die merkwürdige Tatsache festgestellt, daß bei den freilebenden, zwittrigen Nematoden etwa $^3/_4$ bis $^2/_3$ aller Eier unbefruchtet bleiben und zugrunde gehen, da viel weniger Samenzellen als Eier erzeugt werden. Daraus ergibt sich anscheinend, daß die Einrichtung des Zwittertums gar nicht vorteilhaft für die Art ist. Mag sich das wirklich so verhalten oder nicht, so ist es für *Angiostomum* jedenfalls von Vorteil, wenn mehrmals Spermien gebildet werden; denn nun können offenbar alle Eier befruchtet werden

und die Vermehrungsziffer wird dadurch erhöht. Man kann nun vielleicht vermuten, daß die Wiederholung der Spermabildung eine mit dem Parasitismus verknüpfte Erwerbung ist, welche die durch den letzteren erhöhte Vernichtungsziffer wieder ausgleicht[1]).

2. Die Entstehung der reifen Spermien aus den Spermatocyten erster Ordnung.

a) Die Entwicklung der Chromosomen in den Spermatocyten.

Bevor wir die eigenartig verlaufende Samenreifung besprechen, sei daran erinnert, daß erstens in den Ovocyten stets sechs Doppelchromosomen auftreten; falls die Einheiten eines oder mehrerer derselben während der Prophase sich trennen, so sind sie doch in der Äquatorialplatte stets wieder vereinigt; und daß zweitens alle Chromosomen bei beiden Eireifungsteilungen sich vollkommen gleich verhalten. Es war auch nicht zu erkennen, daß von den Chromosomen der Ovocyten einige sich regelmäßig früher entwickeln als andre.

Das Plasma der Spermatocyten bildet anfangs im allgemeinen ein Syncytium, doch sind Zellgrenzen als feine Linien hier und da deutlich zu erkennen. Später kugeln sich die Zellen ab, so daß sie sich voneinander trennen und Lücken zwischen ihnen entstehen. Das Plasma ist anfangs in der ganzen Zelle noch gleichförmig und ziemlich dicht gebaut. Schon vor der Auflösung der Kernmembran treten in dem Plasma helle Stellen auf, welche wie Vacuolen aussehen. Nach dem Schwunde der Kernmembran findet man die Chromosomen in einem dunkelfärbbaren Plasma, welches die Stelle der hellen Kernvacuole eingenommen hat, und von welcher zarte Stränge von ebenso färbbarem Plasma nach der Zelloberfläche ziehen. Zwischen letzteren liegen nun die oben genannten hellen Stellen, welche von einer beinahe homogen erscheinenden Substanz gebildet werden; diese liefert den Zellkörper der reifen Samenzellen (vgl. Fig. 62, 68, 71, 72, 80, 73 bis 76).

In den jungen Spermatocyten findet sich stets ein mäßig großer Nucleolus, der sich stark mit Eisenhämatoxylin und schwach mit Delafieldschem Hämatoxylin färbt. Sein weiteres Verhalten wird unten besprochen werden.

Das Chromatin bildet anfangs unregelmäßig geformte und meist auch unregelmäßig verlaufende Stränge (Fig. 7 *Sp.c*); doch zeigen sie früher oder später oft eine allerdings nicht sehr deutliche polare Anordnung (Fig. 61). Es ist jetzt noch nicht zu erkennen, wie viel solcher Stränge

[1]) Vgl. die Anmerkung auf S. 99.

vorhanden sind. Später treten die ersten Chromosomen auf, und zwar erscheint zuerst nur eines, indem sich einer der Stränge verkürzt, verdichtet und dabei dunkler färbt, bis aus ihm ein meistens stäbchenförmiges Gebilde entstanden ist (Fig. 60 bis 62). Ich habe dieses vorzeitig auftretende Chromosom bei vielen Tieren und stets in einer sehr großen Zahl von Kernen gefunden, ferner bei allen angewandten Färbemethoden, so daß das regelmäßige Vorkommen dieses Gebildes außer Frage steht. Mit der gleichen Regelmäßigkeit beobachtet man in andern Kernen, welche zweifellos ein älteres Stadium darstellen, zwei solcher Gebilde (Fig. 63 bis 65). Nach dem ganzen Verlauf der Chromosomengeschichte handelt es sich dabei um zwei »Heterochromosomen«, und ich habe schon früher erwähnt, daß das Vorhandensein von einem oder von zwei Heterochromosomen das sicherste Kennzeichen der jungen Spermatocyten erster Ordnung ist. Es liegen schon zahlreiche Beobachtungen darüber vor, namentlich bei Insekten, daß die "Idiochromosomen" oder das accessorische Chromosom sich vor den gewöhnlichen Chromosomen verdichten oder sogar während der ganzen Wachstumsperiode der Spermatocyten verdichtet bleiben. Während aber z. B. bei den Coleopteren nach Stevens (1906) und den Hemipteren nach Payne (1909) die kompakten Heterochromosomen in vielen Fällen in ein sogenanntes Plasmosom eingelagert sind, ist davon bei *Angiostomum* nichts zu sehen; die Heterochromosomen können sich hier an jeder Stelle des Kernraums finden, doch ist nicht zu verkennen, daß das zuerst erscheinende häufiger als an andern Stellen dicht an der Kernwand und in der Nähe des Kernkörperchens liegt. Von Bedeutung ist ferner die Tatsache, daß die beiden Heterochromosomen von ihrem ersten Erscheinen an niemals eine Längs- oder Querteilung zeigen.

Erst nach ihnen entstehen die andern Chromosomen. Sie entwickeln sich ebenfalls aus den z. B. in Fig. 61 sichtbaren Chromatinsträngen durch Verkürzung und Verdichtung und unterscheiden sich von den Heterochromosomen dadurch, daß sie, nachdem sie sich etwas verkürzt haben, deutliche Doppelfäden sind (Fig. 66). Durch weitere Zusammenziehung entstehen aus ihnen mannigfaltig gestaltete Chromosomen, wie doppelte Kügelchen oder Würfel, winkelförmig geknickte Stäbchen, in der Mitte eingekerbte Stäbchen, Ringe oder Kreuze (Fig. 66 bis 70); namentlich die zuletzt genannte Form gleicht den in den Ovocyten vorhandenen Chromosomen in Gestalt und Größe vollständig (vgl. Fig. 69 und 34). Alle diese nach den beiden Heterochromosomen auftretenden gewöhnlichen Chromosomen zeigen durch ihren Bau, daß sie im Gegensatz zu den ersteren zweiwertig sind.

Schon in diesem Stadium der Prophase kann man die Chromosomen

sehr oft zählen, und zwar fand ich, von wenigen Ausnahmen abgesehen, welche später besprochen werden, stets sieben. Davon sind fünf bivalent und zwei univalent; die letzteren sind die Heterochromosomen (Fig. 67 und 68 H_1 u. H_2). Selbstverständlich ist die Zweiwertigkeit der fünf gewöhnlichen Chromosomen nur dann bei allen zu erkennen, wenn alle günstig gelagert sind; auch wird sie bei allen immer schwerer feststellbar, wenn die Chromosomen sich weiter verdichten und verkleinern (Fig. 70 bis 72). Bei der Verdichtung eilen die Heterochromosomen auch weiterhin den andern voraus (Fig. 67). In der Äquatorialplatte (Fig. 73 bis 75) kann man die sieben Chromosomen stets mit großer Deutlichkeit erkennen, aber hier ist der Unterschied zwischen den einwertigen Heterochromosomen und den zweiwertigen andern in der Regel nicht mehr zu sehen, wenigstens bei Polansicht, während er bei schräger Ansicht manchmal gut zum Vorschein kommt (Fig. 76).

Die Zahl von sieben Chromosomen war so oft und mit so vollständiger Sicherheit festzustellen, daß es mich sehr überraschte, als ich in manchen Spermatocyten ebenso deutlich nur sechs Elemente antraf. In einem Individuum enthielt eine Hodenzone Spermatocyten, welche alle nur sechs Chromosomen aufwiesen, aber alle sechs waren auch deutlich bivalent. In manchen von diesen Kernen ist ein Doppelchromosom den andern in der Verdichtung deutlich voraus (Fig. 77 *H*), in andern Kernen ist eines so deutlich in seine zwei Einheiten zerlegt, daß man auch von zwei Einzelchromosomen sprechen könnte (Fig. 78 *H*); in beiden Fällen handelt es sich zweifellos um die Heterochromosomen. In der zweiten Keimröhre dieses Tieres waren nur fertige Spermien vorhanden. In einigen andern Würmern habe ich neben Spermatocyten mit sieben Chromosomen ausnahmsweise, aber nur ganz selten solche mit sechs gefunden (Fig. 79), darunter auch einen Kern, in welchem neben den sechs Chromosomen auch ein Nucleolus lag (Fig. 80 *N*). Da ich diese Kerne neben andern mit sieben Chromosomen zu Anfang der Untersuchung zu sehen bekam, wurde mir die Deutung der Chromatinverhältnisse zuerst recht schwer. Wie die Samenreifungsteilungen bei den Spermatocyten mit sechs Chromosomen verlaufen, kann ich nicht sicher sagen, vermute aber ebenso wie bei den andern, indem sich schließlich die beiden hier vereinigten Heterochromosomen doch voneinander trennen.

Es scheint mir nämlich, daß die Zahl von sieben Chromosomen in den Spermatocyten erster Ordnung nur dadurch zustande kommen kann, daß von den zwölf Einzelchromosomen, die in den Ovogonien vorhanden sind, nur zehn sich paaren, während die beiden andern getrennt bleiben oder sich wenigstens vor der Ausbildung der Spermatocyten wieder voneinander

trennen; es sind das natürlich die beiden einwertigen Heterochromosomen. In seltenen Fällen sind letztere länger miteinander vereinigt, so daß man dann sechs Doppelchromosomen findet. Man wird dann kaum bezweifeln können, daß, wie oben schon erwähnt, dasjenige der Doppelchromosomen aus den beiden Heterochromosomen besteht, welches in der Verdichtung am weitesten vorgeschritten ist oder dessen Einheiten am deutlichsten getrennt sind.

Gerade der Umstand, daß hier zwei Chromosomen bald ganz getrennt, bald gepaart sind, scheint mir ein Beweis dafür zu sein, daß die fünf Doppelchromosomen in den Spermatocyten und die sechs in den Ovocyten tatsächlich durch paarweise Vereinigung von Einzelchromosomen entstanden sind; die geschilderten Beobachtungen dürften überhaupt eine weitere Stütze für die Konjugationshypothese im allgemeinen bilden.

Aber auch hier läßt sich nicht sicher entscheiden, wie sich die Einzelchromosomen im genaueren gepaart haben. Wenn wir uns erinnern, daß die fünf Doppelchromosomen durch Verkürzung aus einem Fadenpaar hervorgehen, in welchem die Einzelfäden parallel liegen, und wenn wir weiter bedenken, daß die Einheiten der fünf Doppelchromosomen Einzelchromosomen sind, da sie den Heterochromosomen entsprechen, so liegt allerdings die Annahme sehr nahe, daß die Einzelchromosomen in den Spermatocyten parallel konjugierten. Aus der Chromosomenform in der Prophase der Ovocyten scheint aber hervorzugehen, daß dort eine endweise Konjugation nicht ausgeschlossen ist. Daher möchte ich aus meinen Befunden nur schließen, daß bei *Angiostomum* die Art und Weise der Chromosomenkonjugation nicht festzustellen ist.

Es bleibt nun noch ein Einwand zu besprechen übrig: Der Umstand, daß in den Spermatocyten bald sieben, bald sechs Chromosomen vorhanden sind, könnte die Meinung berechtigt erscheinen lassen, daß es sich bei dem siebenten Chromosom tatsächlich um den Nucleolus handelt. Darüber ist folgendes zu bemerken: Wenn die Heterochromosomen erscheinen, nimmt das Kernkörperchen rasch an Größe und Färbbarkeit ab (doch kann man es auch später noch stets mit Eisenhämatoxylin dunkel färben). Nach dem Auftreten auch der übrigen Chromosomen ist der Nucleolus dann in der Regel verschwunden, in andern Fällen aber bleibt er, wie auch in den Ovocyten, noch längere Zeit erhalten (*N*, Fig. 67, 71 und 80) und kann dabei in mehrere Stücke zerfallen sein (*N*, Fig. 70). Wenn die Chromosomen dann schon stark verdichtet und verkleinert sind, und das Präparat stark mit Eisenhämatoxylin gefärbt ist, so kann es allerdings oft unmöglich sein, den Nucleolus von einem Chromosom sicher zu unterscheiden;

bei Färbung mit Delafieldschem Hämatoxylin aber erscheint der Kernkörper viel blasser als die Chromosomen und kann mit diesen nie verwechselt werden (Fig. 71). Ebenso verhält es sich, wenn bloß sechs Chromosomen vorhanden sind (Fig. 80). Daher ist es ganz ausgeschlossen, daß eines der Chromosomen vom Nucleolus stammt.

b) Die Samenreifungsteilungen.

Die kleinen Chromosomen namentlich der zweiten Reifungsteilung treten zwar am schärfsten bei Anwendung der Eisenhämatoxylinmethode hervor, aber diese hat den Nachteil, daß sie im Plasma zuweilen Körnchen zum Vorschein bringt, welche in ihrer Größe den Centriolen oder den Chromosomen gleichen können. Es kann sich dabei nicht um Gebilde handeln, welche regelmäßig sich in bestimmter Zahl vorfinden, da sie manchmal fehlen, in andern Präparaten aber massenhaft auftreten und zwar in allen Zellen des Schnittes; es ist ja bekannt, daß das Vorkommen solcher Granulationen die Folge von nicht genügender Entfärbung ist. Um durch dieselben nicht getäuscht zu werden, mußte ich mich bei der Untersuchung der Samenreifungsteilungen hauptsächlich an Präparate halten, welche mit Delafieldschem Hämatoxylin gefärbt sind und in welchen die Chromosomen zwar blasser erscheinen, aber mit andern Zelleinschlüssen nicht verwechselt werden können. Bei der Betrachtung der Abbildung wird es auffallen, daß die Spindelfasern nur undeutlich oder gar nicht sichtbar sind (die Centrosomen treten der angewandten Färbemethode wegen nicht hervor). Vermutlich sind die achromatischen Strukturen in den Mitosen der Samenzellen besonders schwer zu fixieren; denn die Spindelfasern bei den Teilungen der Ovogonien, Ovocyten und Furchungszellen sind in den gleichen Präparaten sehr gut zu sehen.

Die folgende Beschreibung bezieht sich nur auf das Verhalten derjenigen Spermatocyten, in welchen die beiden Heterochromosomen nicht gepaart sind; bezüglich der Spermatocyten mit sechs Doppelchromosomen vergleiche Seite 116.

Erste Reifungsteilung.

Die Äquatorialplatte der ersten Reifungsteilung (Fig. 73 bis 75) haben wir schon kennen gelernt; wie schräge Ansichten derselben zeigen (Fig. 76), stellen sich die fünf Doppelchromosomen in ihr so ein, daß die Spalte in ihnen in der Äquatorialebene der Spindel liegt. Diese Spalte trennt die beiden miteinander vereinigten Einzelchromosomen, aber nicht die Längshälften jedes derselben. Das ist daraus zu schließen, daß die beiden Heterochromosomen, wenn sie ausnahmsweise vereinigt sind, ein

Doppelchromosom bilden, das ebenso wie die andern fünf aussieht. Daher muß die erste Reifungsteilung für diese letzteren eine Reduktionsteilung sein. Aus diesem Grunde halte ich es für wahrscheinlich, daß es sich bei der Eireifung ebenso verhält (siehe S. 96). Die beiden Heterochromosomen liegen in der Äquatorialplatte bald nebeneinander, bald weiter entfernt. Wie sie sich durchteilen, habe ich zwar nicht beobachten können, aber aus der in den Spermatocyten zweiter Ordnung vorhandenen Chromosomenzahl geht sicher hervor, daß sich jedes von ihnen teilt. Die Heterochromosomen unterscheiden sich von den andern also dadurch, daß sie zunächst eine Äquationsteilung durchmachen. Seitliche Ansichten von Metakinesisstadien (Fig. 81 und 82) zeigen deutlich, daß sich dabei auf jeder Seite zwei Chromosomen verspäten, und man wird kaum fehlgehen, wenn man annimmt, daß diese die Spalthälften der Heterochromosomen sind. Denn auch bei andern Tieren, wo man sie an ihrer Größe und Form von den andern Chromosomen leicht unterscheiden kann, zeigen sie dieses Verhalten. Die beiden Heterochromosomen jedes Tochterkerns rücken nicht in gleicher Höhe gegen die Spindelpole, sondern häufig wenigstens bleibt das eine hinter dem andern zurück. Ich wage nicht zu entscheiden, ob das eine zufällige Erscheinung ist, da ja auch sonst die Tochterchromosomen manchmal nicht ganz gleichzeitig wandern, oder ob sich dadurch wieder ein ähnlicher Unterschied zwischen den beiden Heterochromosomen kundgibt, wie er sich schon durch ihr ungleichzeitiges Erscheinen in der Prophase offenbarte und später noch auffälliger hervortreten wird. Später vereinigen sich aber alle Chromosomen an den Spindelpolen, so daß jede Spermatocyte zweiter Ordnung wieder sieben erhält (siehe unten). Anfangs sind die Tochterkerne noch durch einen Strang dunkel gefärbten Plasmas verbunden, den Rest der undeutlichen Spindel (Fig. 83); nach dessen Durchtrennung erfolgt auch die Teilung des Zellkörpers (Fig. 84).

Zweite Samenreifungsteilung.

Ein interkinetisches Ruhestadium des Chromatins kommt nicht vor, vielmehr bereiten sich die Chromosomen sofort zur zweiten Reifungsteilung vor, welche nun im Zusammenhange mit den Vorgängen während der Ausbildung der Spermien aus den Spermatiden den Schlüssel zum Verständnis des ganzen vorhergehenden Verhaltens des Chromatins liefert. Bei der Vorbereitung zur zweiten Mitose rücken die Chromosomen wieder etwas auseinander, so daß man sie zählen kann. In Fig. 85 sieht man zwei Spermatocyten zweiter Ordnung, ihrer Lage nach offenbar Schwesterzellen; man erkennt in der einen deutlich, in der andern infolge der weniger günstigen Lage der Chromatinelemente etwas schwieriger je sieben Chro-

mosomen. Es geht daraus hervor, daß die erste Samenreifungsteilung wirklich so verlief, wie sie oben geschildert wurde. Zwei von den Chromosomen sind ungeteilt, die andern deutlich gespalten; es ist kaum zu bezweifeln, daß die letzteren die gewöhnlichen Chromosomen sind, die andern die Heterochromosomen. Später ordnen sich alle wieder in einer Ebene an, wobei man dann stets die fünf geteilten und die beiden ungeteilten Chromosomen deutlich sehen kann; letztere können wie bei der ersten Reifungsteilung an verschiedenen Stellen der Äquatorialplatte liegen (Fig. 86 und 87). In manchen Fällen sind einige oder alle Spalthälften der fünf gewöhnlichen Chromosomen, schon bevor die Metakinesis begonnen hat, auseinandergetreten, so daß man in der Äquatorialplatte außer den beiden ungeteilten Heterochromosomen zehn Einzelchromosomen sieht, welche mehr oder weniger deutlich paarweise einander genähert sind (Fig. 87).

Wie die zweite Reifungsteilung verlaufen wird, ist aus diesen Vorgängen schon zu erraten: Jede Tochterzelle erhält je eine Spalthälfte der fünf gewöhnlichen Chromosomen und ein ungeteiltes Heterochromosom. Die beiden Tochterplatten zeigen denn auch bei Polansicht deutlich sechs Chromosomen (Fig. 88 und 89; die beiden Tochterplatten liegen in verschiedenen Ebenen, was durch verschieden starke Tönung ihrer Chromosomen angedeutet wurde). In einem Falle fand ich in der einen Gruppe nur fünf, in der andern aber sieben Chromosomen; allerdings liegt von letzteren eines näher an der ursprünglichen Äquatorialebene als die andern sechs (Fig. 90); hier wären also offenbar beide Heterochromosomen ausnahmsweise in ein und dieselbe Tochterzelle geraten (vgl. unten).

Aus dem oben gesagten und dem eben beschriebenen Vorgang ist zu schließen, daß die Heterochromosomen die Reduktionsteilung erst bei der zweiten Reifungsteilung durchmachen. Ein ungleiches Verhalten der gewöhnlichen und der Heterochromosomen hinsichtlich der Art der Teilung ist auch sonst noch beobachtet; so findet z. B. Montgomery (1910) dasselbe bei *Euschistus* (Hemiptera).

Seitliche Ansichten der zweiten Reifungsteilung zeigen, daß sich auch hier Chromosomen bei der Wanderung nach den Spindelpolen verspäten, aber nur eines auf jeder Seite (Fig. 91); auch hier sind das wohl zweifellos die beiden Heterochromosomen. Von nun an verhalten sich diese verschieden. In der einen vereinigen sich schließlich alle Chromosomen mit Einschluß des Heterochromosoms zu einem Klümpchen, aus dem der Kern der Spermatide wird. In der andern bilden aber nur die fünf gewöhnlichen Chromosomen den Kern, während das zurückgebliebene Heterochromosom in der Nähe der Stelle liegen bleibt, wo die Schwesterzellen

längere Zeit noch miteinander zusammenhängen (Fig. 92). Es ist anfangs mit dem Kern der Spermatide, in welcher es liegt, durch einen Strang dunkel gefärbten Plasmas verbunden, den Rest der Spindel (Fig. 93). Wie das Schicksal jener Spermatide sich gestaltet haben würde, in welche sieben Chromosomen eingetreten sind (Fig. 90), kann man natürlich nicht sicher sagen; wenn von diesen auch eines ganz zurückbleiben würde, so käme das gleiche Ergebnis wie in normalen Fällen zustande.

c) Ausbildung der Spermien.

Die Schwesterspermatiden bleiben während ihrer Umbildung in die Spermatozoen noch längere Zeit miteinander im Zusammenhang, wodurch die Deutung der Bilder sehr erleichtert wird. Zunächst sondert sich in jeder Zelle das oben erwähnte, hell gefärbte Plasma von dem dunkeln; letzteres sammelt sich da an, wo die beiden Schwesterzellen zusammenhängen, während das helle Plasma distalwärts verlagert wird; beide Zellen durchlaufen diese Veränderungen oft nicht gleichzeitig (Fig. 93 und 94). Darauf löst sich das helle Plasma, in welchem der Kern liegt, von dem dunkeln los, was ebenfalls häufig nicht gleichzeitig bei den Schwesterspermatiden geschieht (Fig. 95), und schließlich findet man die Spermatiden, deren Zellkörper also nur von dem hell färbbaren Plasma gebildet wird, isoliert, während die aus dem dunkeln hervorgegangenen Restkörper oft dauernd oder längere Zeit miteinander vereinigt bleiben (Fig. 96). Die Bildung ähnlicher Restkörper oder Cytophore ist auch von andern Nematoden bekannt, nämlich von *Ascaris megalocephala* durch van Beneden und Julin (1884), O. Hertwig (1890), A. Mayer (1908) u. a. und von *Ascaris canis* durch Marcus (1906).

Wie verhält sich unterdessen das in der Nähe der ursprünglichen Äquatorialebene zurückgebliebene Heterochromosom? Es kommt in den dunkeln Teil des Plasmas zu liegen, in die Nähe der Grenze der beiden Spermatiden (Fig. 93 bis 95), und wenn die Spermien sich vom Restkörper loslösen, bleibt es in diesem und ist hier stets nachweisbar (Fig. 96). Trennen sich die beiden Restkörper voneinander, so findet man natürlich einige mit einem dunkeln Körnchen, dem ausgestoßenen Heterochromosom, und andre ohne ein solches.

Von den fertigen Spermien sei nur soviel erwähnt, daß ihr Kern anfangs bläschenförmig ist, später aber homogen wird; in Eisenhämatoxylinpräparaten sieht man neben dem Kern das Centriol (Fig. 97 und 98). Die fertigen Spermien sind verschieden groß, doch kann man nicht etwa nur zwei Größensorten unterscheiden, sondern es kommen zwischen den größten und den kleinsten Übergänge vor, wie schon aus Fig. 97 und 98 hervorgeht.

Daher kann man den Größenunterschied der Spermien nicht darauf zurückführen, daß in der einen Art sechs, in der andern nur fünf Chromosomen vorhanden sind, vielmehr wird der Grund dafür darin zu suchen sein, daß in manchen Spermatiden die Menge des hellen Plasmas eine größere oder die Sonderung des hellen Plasmas vom dunkeln eine vollständigere ist als in andern. Da das helle Plasma den Körper der Samenzellen liefert, muß dieser daher verschieden groß ausfallen. Größenunterschiede der Spermien sind auch bei *Ascaris megalocephala* von Scheben (1905) und A. Mayer (1908) beschrieben worden.

Das theoretisch wichtigste an dem ganzen Vorgange der Samenbildung ist zweifellos die Entstehung von zwei Spermienarten, von welchen die eine ein Chromosom weniger hat als die andre. Dieses Ergebnis wird dadurch herbeigeführt, daß in einer von den beiden Schwesterspermatiden das Heterochromosom sich mit den gewöhnlichen Chromosomen schließlich vereinigt, in der andern aber mit dem Restkörper abgestoßen wird. Das ist eine ebensolche »Regulation« der Chromosomenzahl, wie sie nach von Baehr und Morgan in den zu Männchen werdenden Eiern der Aphiden und Phylloxeriden eintritt. Wie schon eingangs erwähnt, konnten die beiden genannten Autoren aber nicht feststellen, wie die Ausstoßung oder das Verschwinden der Heterochromosomen in diesen Eiern vor sich geht. Bei *Angiostomum nigrovenosum*, wo diese »Regulation« der Chromosomenzahl während der Spermatogenese eintritt, war es natürlich leichter den Vorgang zu verfolgen, da man diese Stadien in manchen Präparaten häufig findet.

III. Die Chromosomen während der Embryonalentwicklung der getrenntgeschlechtlichen Generation.

Wie wir sahen, treten in den weiblichen Pronucleus stets sechs Chromosomen ein, während die reifen Samenzellen entweder sechs oder fünf enthalten. Die Erwartung, daß die Embryonen daher teils zwölf, teils elf Chromosomen besitzen, bestätigte sich vollauf.

Es schien mir nicht nötig zu sein, den ganzen Furchungsprozeß genau zu verfolgen, nachdem wir denselben schon durch Goette (1882) und Ziegler (1895) kennen und es sich gezeigt hat, daß hier die Furchung im wesentlichen ebenso verläuft wie nach zur Strassen (1895), Zoja (1896) und Boveri (1899) bei *Ascaris megalocephala*. Es ergab sich nun, daß die Chromosomenzahl wie bei andern Nematoden und wie bei manchen Insekten in den somatischen Zellen sich erhöht und zwar verdoppelt. Das geschieht nicht schon bei der ersten Teilung der somatischen Zellen nach ihrer Trennung von der Keimbahn; denn beim zweiten Teilungsschritt

sind in beiden Furchungszellen noch gleichviel Chromosomen zu zählen. Wenn aber z. B. die beiden ersten Ectodermzellen (*A* und *B* nach der Boverischen Bezeichnung) sich zur Teilung vorbereiten, so hat sich in ihnen die Chromosomenzahl verdoppelt. Dagegen bleibt in der Keimbahn stets die ursprüngliche Zahl von elf oder zwölf erhalten. Bei dieser Verdoppelung der Chromosomenzahl tritt nichts ein, was man mit der bei *Ascaris megalocephala* vorkommenden Chromatindiminution vergleichen könnte. Ein Zerfall der Sammelchromosomen — denn als solche müssen wir die in der Keimbahn vorkommenden Chromatineinheiten ansehen — in ihre beiden Teile kann abnormerweise schon während der Eireifung eintreten (vgl. S. 95).

Zunächst mögen die Abbildungen besprochen werden, welche nach Schnitten durch Embryonen mit elf bzw. 22 Chromosomen gezeichnet sind. Fig. 99 zeigt die beiden Centrosome kurz vor der Ausbildung der ersten Furchungsspindel und zwischen ihnen die beiden Vorkerne; in dem einen, natürlich dem weiblichen, liegen sechs Chromosomen, während der andre, der männliche, neben zwei kleinen, kugeligen Nucleolen nur fünf Chromosomen enthält. Auch in der fertig entwickelten, ersten Furchungsspindel (Fig. 100) kann man zuweilen die beiden elterlichen Chromosomengruppen deutlich unterscheiden und feststellen, daß die eine aus fünf und die andre aus sechs Chromosomen besteht. In andern Fällen haben sich aber die beiden Gruppen inniger miteinander vereinigt, so daß man nur erkennen kann, daß im ganzen elf Elemente vorhanden sind; Fig. 101 zeigt eine solche Äquatorialplatte. Ein Kern in Prophase von einem Zweizellenstadium ist in Fig. 102 abgebildet; man erkennt auch hier neben zwei kleinen, kugeligen Nucleolen deutlich elf Chromosomen. Einer Blastula sind Fig. 103 und 104 entnommen, die erstere zeigt den Kern der Urkeimzelle mit elf Chromosomen, die andre den Kern einer somatischen Zelle mit 22 Chromosomen.

Kerne von Embryonen mit zwölf bzw. 24 Elementen sind in Fig. 105 bis 108 abgebildet. Die erste dieser Zeichnungen gibt die beiden Vorkerne wieder, welche je sechs Chromosomen enthalten; die Centrosomen konnten nicht abgebildet werden, da sie oberhalb bzw. unterhalb der Kerne liegen. Fig. 106 *a* und *b* zeigen die in Prophase befindlichen Kerne eines Zweizellenstadiums; jeder enthält sechs Chromosomen. Älteren Stadien sind die beiden letzten Abbildungen entnommen, und zwar zeigt Fig. 107 die zwölf Elemente der Äquatorialplatte einer Keimbahnzelle, während in Fig. 108 die 24 Chromosomen einer somatischen Zelle deutlich zu erkennen sind.

Es muß nun noch hinzugefügt werden, daß ich niemals in ein und

demselben Embryo Zellen mit verschiedener Chromosomenzahl feststellen konnte, abgesehen von der Verschiedenheit, welche durch den in den somatischen Zellen vorkommenden Zerfall der Sammelchromosomen bedingt ist. Daher dürfte zur Genüge festgestellt sein, daß es zwei hinsichtlich der Chromosomenzahl verschiedene Arten von Embryonen der getrenntgeschlechtlichen Generation gibt. Da bei der Spermatogenese gleichviel Spermien mit sechs bzw. fünf Chromosomen entstehen müssen, so ist auch zu erwarten, daß gleichviel Embryonen beider Arten vorkommen. Das konnte ich aber nicht feststellen, da nur verhältnismäßig sehr wenige Kerne der Embryonen die Zählung der Chromosomen erlauben. Bisher konnte ich in keinem reifen Tier der getrenntgeschlechtlichen Generation die Chromosomenzahl feststellen; daher kann erst der zweite Teil dieser Untersuchungen den Beweis liefern, daß die Embryonen mit elf Chromosomen zu Männchen und die andern zu Weibchen werden; allerdings glaube ich, daß man das nach den vielen Beobachtungen an andern Tieren schon jetzt nicht bezweifeln kann.

Während wir in den Äquatorialplatten der Ovogonien häufig deutlich vier kleinere und acht größere Chromosomen erkennen konnten, sind solche konstante Größenunterschiede weder in den Ovocyten und Samenzellen, noch in den Kernen der Embryonen feststellbar. So müssen wir also schließen, daß bei manchen Tieren Größenunterschiede der Chromosomen nur während bestimmter Phasen des gesamten Chromatincyklus vorhanden oder wenigstens einigermaßen sicher erkennbar sind. Auch sei noch hinzugefügt, daß auch während der Furchungsteilungen keine Chromosomen bei der Wanderung an die Pole zurückbleiben; wenigstens geschieht das nicht so regelmäßig, daß man es mit dem Zurückbleiben der Heterochromosomen während der Spermatogenese vergleichen könnte.

Theoretischer Teil.

I. Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse.

Derjenige Teil des Chromatincyklus von *Angiostomum*, über welchen in dieser Mitteilung berichtet werden konnte, verläuft also folgendermaßen:

In den Ovogonien der zwittrigen Generation sind zwölf Chromosomen vorhanden, wobei häufig vier kleinere und acht größere deutlich unterschieden werden konnten, während entsprechende konstante Größenverschiedenheiten in andern Phasen des Chromatincyklus nicht zu erkennen waren. Aus der letzten Ovogoniengeneration gehen Ovocyten erster Ordnung hervor, welche ein Synapsisstadium und ein langandauerndes Wachs-

tumsstadium durchlaufen, worauf sich aus ihrem Kern sechs Doppelchromosomen entwickeln, welche durch paarweise Konjugation der zwölf Einzelchromosomen entstanden sein müssen. Darauf folgen zwei Reifungsteilungen, in welchen sich alle Chromosomen gleich verhalten; die erste derselben muß man als die Reduktionsteilung auffassen. In den weiblichen Pronucleus treten sechs einwertige Chromosomen ein.

Die Spermatocyten entstehen aus den Zellen unmittelbar unterhalb der Synapsiszone, indem diese nur ganz wenig heranwachsen. Nachträglich können entweder einige dieser zu Spermatocyten bestimmten Zellen heranwachsen und Ovocyten werden, oder es können umgekehrt schon etwas herangewachsene Ovocyten durch Größenabnahme zu Spermatocyten sich umbilden. Obwohl der letztere Vorgang aus den im speziellen Teil erörterten Gründen wahrscheinlicher ist, kann man doch nicht entscheiden, welcher Vorgang tatsächlich eintritt.

In den Spermatocyten erster Ordnung erscheint zuerst ein Heterochromosom, darauf ein zweites; beide sind einwertig. In seltenen Fällen können sie gepaart sein. Erst danach entwickeln sich fünf Doppelchromosomen, durch paarweise Versehmelzung aus den übrigen zehn Einzelchromosomen entstanden. Die erste Reifungsteilung führt die Zahlenreduktion der gewöhnlichen Chromosomen durch, während jedes Heterochromosom äqual geteilt wird; dabei verspäten sich letztere während der Metakinese. In den Spermatocyten zweiter Ordnung liegen also wieder sieben Chromosomen, zwei Heterochromosomen und fünf gewöhnliche, welch letztere sich alsbald wieder zur Teilung vorbereiten. Die zweite Reifungsteilung bedeutet für die gewöhnlichen Chromosomen eine Äquationsteilung, von den beiden Heterochromosomen wandert je eines in jede Spermatide, dabei wiederum hinter den andern zurückbleibend; für sie ist die zweite Teilung eine Reduktionsteilung. In der einen Schwesterspermatide vereinigen sich schließlich die fünf gewöhnlichen und das Heterochromosom zu der Bildung des Kernes, während in der andern der Kern nur aus den ersteren hervorgeht und das Heterochromosom bei der Umbildung der Spermatiden in das Spermium mit dem Restkörper abgestoßen wird.

Es sind Embryonen mit elf Chromosomen in den Keimbahnzellen bzw. 22 in den somatischen vorhanden, während in andern die entsprechenden Zahlen zwölf bzw. 24 betragen. Diese Embryonen entwickeln sich zu den Individuen der getrenntgeschlechtlichen Generation.

Das sind die Ergebnisse der bisherigen Untersuchung. Aus ihnen kann man folgende Schlüsse auf das Verhalten des Chromatins in dem übrigen Teil seines Cyklus ziehen: Die Embryonen mit elf Chromosomen

werden sich zu Männchen, die andern zu Weibchen entwickeln. Die von den letzteren hervorgebrachten Eier werden nach der Reifung sechs Chromosomen enthalten, während die Männchen Spermien mit sechs oder fünf Chromosomen in gleicher Anzahl erzeugen. Das ist zu erwarten nach den neueren Untersuchungen an getrenntgeschlechtlichen Nematoden und andern Tieren. Da aber nun die Individuen der wieder folgenden zwittrigen Generation alle zwölf Chromosomen enthalten, so müssen wir mit Bestimmtheit erwarten, daß die Samenzellen mit nur fünf Chromosomen auf irgend eine Weise ausgeschaltet werden. Die Annahme ist berechtigt, weil nachgewiesenermaßen auch bei den Phylloxeriden und den Aphiden die Samenzellen mit der geringeren Chromosomenzahl zugrunde gehen. Die Ergebnisse des noch auszuführenden zweiten Teiles des Chromatincyklus werden den Prüfstein bilden für die Richtigkeit der hier mitgeteilten Ergebnisse. Die weiteren Untersuchungen werden aber durch die Kleinheit der Zellen und Chromosomen sehr erschwert.

II. Zur Frage nach den Beziehungen zwischen Chromatin und Geschlechtsbestimmung.

Obwohl der Chromatincyklus von *Angiostomum* noch nicht vollkommen aufgeklärt ist, möchte ich doch an die bisher mitgeteilten Ergebnisse einige Erörterungen anschließen, welche sich auf das Problem der Geschlechtsbestimmung beziehen. Eine der Grundlagen der folgenden Ausführungen bildet allerdings die noch nicht bewiesene Annahme, daß alle Embryonen mit elf Chromosomen zu Männchen, alle andern zu Weibchen werden; aber die zahlreichen hierher gehörenden Beobachtungen an Nematoden, Insekten und andern Tieren stellen die Richtigkeit dieser Annahme schon jetzt fast außer jeden Zweifel. Das Problem der geschlechtbestimmenden Ursachen ist bei *Angiostomum nigrovenosum* ganz besonders kompliziert, da es in eine Anzahl ganz verschiedener Fragen zerfällt.

1. Was ist die Ursache, daß aus einem befruchteten Ei der zwittrigen Generation bald ein Männchen, bald ein Weibchen entsteht?

Es kann keinem Zweifel unterliegen, daß überall da, wo die Männchen ein oder mehrere Chromosomen weniger als die Weibchen besitzen oder sich sonst in gesetzmäßiger Weise hinsichtlich ihrer Chromosomen von letzteren unterscheiden, der Chromosomenbestand in irgend einer Beziehung zur Geschlechtsbestimmung steht. Es scheint ja jetzt eine allgemeine Regel zu sein, daß überall, wo ein Unterschied zwischen dem Chromosomenbestand der Männchen und der Weibchen vorhanden ist, die Männchen durch ein Weniger an Chromatin ausgezeichnet sind. Wenn

wir von den sog. überzähligen Chromosomen (Wilson 1909) absehen, so ist nur eine sichere Ausnahme davon bekannt; Payne (1910) hat nämlich festgestellt, daß dem Männchen von *Acholla multispinosa* (Hemiptera) zwar weniger Chromosomen, aber mehr Chromatin als dem Weibchen zukommt, weil es ein besonders großes Chromosom besitzt. Vielleicht wird dieser Widerspruch behoben durch die Erklärung von Morgan (1909), daß die drei kleinen Chromosomen, welche im Weibchen das große des Männchens vertreten, aktiver als letzteres sind. Auch bei *Angiostomum nigrovenosum* sind alle Vorbedingungen dafür erfüllt, daß die Männchen ein Chromosom weniger als die Weibchen erhalten. Aber welches die Beziehungen zwischen dem Chromatin und den geschlechtsbestimmenden Ursachen sind, ist bis jetzt noch durchaus unklar; jeder Versuch, eine ins einzelne gehende Erklärung zu geben, ist bis jetzt auf unüberwindliche Schwierigkeiten gestoßen.

2. Was ist die Ursache, daß aus den befruchteten Eiern der getrenntgeschlechtlichen Generation nur eine Individuenart (Zwitter) entsteht?

Alle Individuen der zwittrigen Generation sind gleich gebaut und zwar von weiblichem Habitus; nur bringen sie in ihren Eiröhren auch Samenzellen hervor. Alle enthalten auch die gleiche Chromosomenzahl, nämlich zwölf. Es ist dabei zu betonen, daß dies die gleiche Zahl ist, welche wir in den Weibchen der getrenntgeschlechtlichen Generation voraussetzen. Es ist nicht zu bezweifeln, daß man diese beiden Tatsachen miteinander in Beziehung bringen muß, wenn man sie erklären will. Auch bei andern Tieren entstehen aus den befruchteten Eiern einer getrenntgeschlechtlichen Generation nur einerlei Individuen, nämlich Weibchen, und auch bei diesen haben alle diese Weibchen die gleiche Chromosomenzahl. Das ist bekanntlich bei den Aphiden und Phylloxeriden der Fall, und das Vorhandensein der gleichen Chromosomenzahl in den Wintereiern wird, wie hier ganz sicher nachgewiesen ist, dadurch erreicht, daß eine Spermienart degeneriert (siehe Einleitung); voraussichtlich wird sich das bei *Angiostomum* ebenso verhalten. Damit ist aber natürlich ebenfalls nicht bekannt, welche Beziehung zwischen der Chromosomenzahl und dem Geschlecht der parasitischen Generation besteht.

3. Was ist die Ursache, daß in den Individuen der parasitischen Generation trotz ihres weiblichen Baues auch Samenzellen entstehen?

Da die Weibchen der getrenntgeschlechtlichen Generation ebensoviel Chromosomen als die zwittrigen Individuen besitzen, so kann das Ent-

stehen von Samenzellen neben Eiern in letzteren nicht mit der Chromosomenzahl zusammenhängen.

Es scheint, daß die Entwicklung mancher Keimzellen zu Spermatocyten statt zu Ovocyten zum Teil auf Ursachen beruht, die außerhalb dieser Keimzellen liegen. Besonders schlagend wäre das zu beweisen, wenn es sich wirklich bestätigen sollte, daß einige schon herangewachsene Ovocyten sich nachträglich durch Verkleinerung zu Spermatocyten umwandeln. Wenn das geschieht, so tritt die Umwandlung sicher auf verschieden alten Stadien ein, betrifft aber natürlich nur einige Ovocyten, obwohl alle gleichen Ursprungs sind. Ein solches Umschlagen der Entwicklungsrichtung bei einigen Zellen auf verschiedenen Entwicklungsstadien dürfte sich aber mit inneren Ursachen allein nicht erklären lassen. Natürlich muß die Möglichkeit einer solchen andersartigen Entwicklung durch das Vorhandensein der dazu nötigen inneren Anlagen gegeben sein, aber der Anstoß dazu muß von außen kommen. Diese äußeren Ursachen brauchen nicht außerhalb des Wurmkörpers zu liegen, sondern können sich innerhalb desselben befinden; man kann sogar vielleicht daran denken, daß innere Secretion dabei eine Rolle spielt. Aber wenn auch die Umwandlung von schon herangewachsenen Ovocyten in Spermatocyten sich nicht bestätigt, sondern wenn umgekehrt einige Zellen, die durch ihr Verharren auf der ursprünglichen Größe während ihrer Abwärtswanderung in der Keimröhre die Tendenz zeigen, zu Spermatocyten zu werden, nachträglich zu Ovocyten heranwachsen, so ist eigentlich ebenfalls der Beweis dafür geliefert, daß außerhalb von ihnen gelegene Ursachen auf ihre Entwicklung einwirken und deren Richtung umkehren können. Ancel (1903) hat über die Ursachen, welche bestimmen, ob eine Zelle des Keimlagers in der Zwitterdrüse von *Helix pomatia* zur Ovocyte oder zur Spermatocyte wird, folgende Hypothese aufgestellt: »Die anfangs indifferente Geschlechtszelle schlägt die Richtung nach der männlichen oder der weiblichen Seite ein entsprechend den Bedingungen, welche sie in der Keimdrüse antrifft. Das Vorhandensein eines bestimmten Nährmaterials, das von den Nährzellen geliefert wird, differenziert sie in weiblichem Sinne, das Fehlen desselben in männlichem Sinne.« Man sieht, daß auch Ancel äußeren Ursachen eine wesentliche Mitwirkung bei der Differenzierung der Keimzellen zuerkennt. Im einzelnen kann seine Erklärung hier nicht angewendet werden; denn wenn wir auch die Zellen der Degenerationszone als Nährzellen auffassen wollen, so sind zu der Zeit, wo diese auftreten, so gut wie alle Keimzellen schon endgültig differenziert.

Wie bei manchen Tieren äußere Bedingungen einen Einfluß auf das Geschlecht der sich entwickelnden Tiere auszuüben imstande zu sein schei-

nen, so beeinflussen also äußere Bedingungen bei der zwittrigen Generation von *Angiostomum* die Entwicklungsrichtung der Keimzellen. Damit möchte ich aber nicht behaupten, daß das bei allen Nematoden, insbesondere bei den getrenntgeschlechtlichen, ebenso ist; es bestehen in dieser Hinsicht zweifellos bei Tieren wie bei Pflanzen die größten Verschiedenheiten.

An dieser Stelle mögen auch folgende Erwägungen erlaubt sein: Wir müssen zweifellos voraussetzen, daß aus den Embryonen mit zwölf Chromosomen in der getrenntgeschlechtlichen Generation nur Weibchen hervorgehen; die Chromosomenzahl zwölf ist also die weibliche und elf die männliche. Die zwittrige Generation hat dem Soma nach weiblichen Bau und hat auch die weibliche Chromosomenzahl; trotzdem entstehen in ihr neben Eiern auch Samenzellen. Es ist also möglich und bei *Angiostomum* verwirklicht, daß Zellen mit der weiblichen Chromosomenzahl zu männlichen Keimzellen werden. Daher darf man vielleicht die Frage aufwerfen, ob wenigstens bei manchen Tieren die Chromosomenzahl nur das Geschlecht des Somas bestimmt, das der Keimdrüse aber von andern Ursachen abhängt. Man müßte dann auch erwarten, daß ein Individuum mit der männlichen Chromosomenzahl und einem männlichen Soma auch imstande ist, weibliche Keimzellen zu erzeugen, die dann im Gegensatz zu den in einem Weibchen entstehenden Eiern die männliche Chromosomenzahl enthalten. Eine cytologische Untersuchung der von Maupas bei *Rhabditis elegans* gefundenen Männchen mit Eiern in der Hodenröhre dürfte in dieser Hinsicht interessante Ergebnisse liefern. Allerdings kann man sich fragen, ob es überhaupt richtig ist, daß die Spermatocyten der zwittrigen Generation von *Angiostomum* wirklich noch ebenso wie die Ovocyten zwölf Chromosomen enthalten. Wir sahen, daß eines von ihnen später ausgestoßen wird und sich in der Prophase vor allen andern verdichtet; daher kann man vielleicht annehmen, daß das zwölfte Chromosom zwar in den Spermatocyten noch vorhanden ist, aber in einem so inaktiven oder degenerierten Zustande, daß es nicht zur Geltung kommt. Dann ist eigentlich nur die männliche Chromosomenzahl vorhanden. Die Ursachen, welche bestimmen, ob aus einer jungen Keimzelle eine Ovocyte oder eine Spermatocyte wird, bestimmen zunächst, ob das zwölfte Chromosom aktiv wie die andern bleibt oder degeneriert. Im ersteren Falle entsteht aus der Keimzelle das größere Ei, im letzteren die kleinere Spermatocyte. Boveri (1908) hat schon den Satz aufgestellt, daß die Zellen mit dem größeren Chromatingehalt »potentiell« größer sind.

4. Was ist die Ursache, daß zweierlei Spermien entstehen?

Bei sehr vielen Tieren besitzt bekanntlich das Männchen ein Chromosom weniger als das Weibchen und zwar ist seine Chromosomenzahl eine ungerade. Da nun das Wesentliche der Reduktionsteilung das ist, daß die Chromosomen ungeteilt bleiben und sich nur auf die Tochterzellen verteilen, so müssen bei der Spermatogenese in diesen Männchen ganz mechanisch zweierlei Samenzellen entstehen, indem die Hälfte von ihnen ein Chromosom mehr erhält als die andern. Ganz ebenso verhält es sich, wenn der Unterschied zwischen dem Chromosomenbestand des Männchens und jenem des Weibchens komplizierter ist. Falls nun tatsächlich die verschiedene Chromosomenzahl die Ursache davon ist, ob aus einem Ei ein Männchen oder ein Weibchen entsteht, so ist die Geschlechtsdifferenzierung in diesen Fällen ein ganz einfacher, mit der Chromosomenreduktion verbundener Mechanismus.

Bei *Angiostomum* verhält es sich aber viel verwickelter. In seinen Spermatocyten sind eigentlich zwölf Chromosomen vorhanden und durch die Reduktionsteilung, wie sie auch im einzelnen verlaufen mag, erhält jede Spermatide gleichviel, nämlich sechs Chromosomen. Erst danach wird ein Unterschied in der Chromosomenzahl der Spermatiden bzw. Spermien herbeigeführt, indem in der Hälfte von ihnen ein Chromosom ausgestoßen wird. Das kann nicht auf dem Teilungsapparat beruhen, sondern wir müssen die Ursache dafür in dem zugrunde gehenden Chromosom selbst suchen; allerdings vermag man sich noch keine Vorstellung davon zu machen, warum dieses Chromosom nicht ebenso wie die andern dem Teilungsapparat folgt. Ursprünglich hatte sich dieses abweichende Chromosom aber ebenso verhalten wie die andern; denn es stammt von einem Element in den Ovogonien ab, in welchen sich alle gleich benehmen, ebenso wie bei der Reifung und Furchung des Eies. Die letzte Ursache davon, daß zweierlei Spermien entstehen, ist also die, welche bewirkt, daß das später ausgestoßene Chromosom andre Eigenschaften annimmt. Ich habe im beschreibenden Teil schon die Anschauung geäußert, daß dasjenige von den beiden Heterochromosomen später zugrunde geht, welches in der Prophase zuerst erscheint. Es geht zuerst also aus dem aktiven Zustande im bläschenförmigen Kern in den passiven, verdichteten Zustand über, verhält sich auch während der Teilungen am trägsten und vermag sich schließlich gar nicht mehr mit den andern zu vereinigen.

Die Entstehung von zweierlei Spermien wird also bei andern Tieren und wohl auch in der getrenntgeschlechtlichen Generation von *Angiostomum* durch den verhältnismäßig einfachen Mechanismus der Reduktions-

teilung bewirkt, während hier dasselbe durch ganz andre Ursachen erreicht wird. Falls also das Geschlecht durch die Chromosomenzahl bestimmt wird, so ist letztere mindestens hier nur die unmittelbare Ursache der Geschlechtsdifferenzierung und die eigentlich primäre Ursache ist diejenige, welche bewirkt, daß in einer Spermatide das Heterochromosom ausgestoßen wird. Daher wird die Frage erlaubt sein, ob die verschiedene Chromosomenzahl überhaupt einen Einfluß auf die Geschlechtsbestimmung hat, und ob die Spermien nicht aus andern Ursachen und in andrer Weise in »männliche« und »weibliche« differenziert sind und die verschiedene Chromosommenzahl, die sie erhalten, nur die Folge davon ist. Damit soll nicht gesagt sein, daß die Ansicht eine große Wahrscheinlichkeit für sich hat, sondern es soll damit nur dasselbe, was schon oben ausgesprochen wurde, betont werden, daß wir nämlich noch gar nicht wissen, welcher Art die Beziehungen zwischen Chromatin und Geschlechtsbestimmung sind.

Anhangsweise möchte ich hier auf zwei etwas ferner liegende Probleme zu sprechen kommen.

Montgomery (1906) und andre leiten die Heterochromosomen, Wilson (1905 ff.) phylogenetisch von gewöhnlichen Chromosomen ab. Diese Annahme findet in dem Verhalten des Chromatins bei *Angiostomum* in gewisser Hinsicht eine Bestätigung. Hier entsteht sowohl das später ausgestoßene wie das andre, weniger abweichend sich verhaltende Heterochromosom aus je einem Chromosom der Ovogonien; in letzteren sind aber alle Chromosomen ebenso wie in den Ovocyten und Furchungszellen gleichartig. Die abweichenden Eigenschaften der Heterochromosomen entstehen hier also ontogenetisch (während der Prophase der ersten Samenreifungsteilung) jedesmal wieder neu. Bei andern Tieren hat sich nun vielleicht so allmählich ein dauernder Unterschied zwischen Heterochromosomen und den gewöhnlichen herausgebildet, der sich dann nicht nur in dem Verhalten, sondern auch in Größe und Form kundgibt.

Es ist eigentlich nicht verständlich, warum bei der parasitischen Generation die geschlechtliche Fortpflanzung beibehalten wurde. Bei ihr kommt es ja doch nicht zu einer Amphimixis, da gegenseitige Begattung bei dem Baue der Zwitter ausgeschlossen ist, dagegen kann die Amphimixis in der getrenntgeschlechtlichen Generation sehr leicht erreicht werden. Daher erscheint es geradezu als schädlich für die Art, daß die parasitische Generation nicht wie andre Nematoden (nach Maupas) sich parthenogenetisch fortpflanzt; denn dann könnten weit mehr Eier hervorgebracht werden. Vielleicht ist die geschlechtliche Fortpflanzung nur deshalb beibehalten, weil bei Nematoden die Geschlechtsdifferenzierung,

welche in der nächsten Generation ja eintritt, nur möglich ist durch Vermittlung der dabei entstehenden zwei Spermienarten. Das braucht allerdings nicht so zu sein, denn bei den Aphiden und Phylloxeriden wird dasselbe dadurch erreicht, daß in der einen Eiart Chromosomen ausgestoßen werden. Wir sehen aber oft im organischen Reich, daß dasselbe Ergebnis auf ganz verschiedenen Wegen zustande kommt.

Freiburg i. Br., den 8. März.

Nachschrift.

Während der Drucklegung dieser Arbeit erschien ein Aufsatz von Boveri (»Über das Verhalten der Geschlechtschromosomen bei Hermaphroditismus. Beobachtungen an *Rhabditis nigrovenosa*«, Verhandl. d. phys.-med. Gesellschaft zu Würzburg. N. F. Bd. XLI, 1911), in welchem über Ergebnisse berichtet wird, die sich zum größten Teil und in den wichtigsten Punkten mit den meinigen decken. Boveri hat aber nicht nur die hermaphroditische, sondern auch die getrenntgeschlechtliche Generation untersucht und hat dadurch den Chromatincyklus von *Angiostomum* vollständig klar gelegt. Er fand, daß tatsächlich die Weibchen der getrenntgeschlechtlichen Generation zwölf Chromosomen, die Männchen elf besitzen, und daß die letzteren ebenso wie andere gonochoristische Nematoden zweierlei Spermien hervorbringen, nämlich solche mit sechs und andre mit fünf Chromosomen in gleicher Zahl. Beide Arten gelangen bei der Begattung auch in das Receptaculum seminis des Weibchens, doch muß man schließen, daß die Spermien mit fünf Chromosomen nicht funktionsfähig sind, da eben alle Individuen der hermaphroditischen Generation zwölf Chromosomen enthalten. Diese übereinstimmenden Ergebnisse der beiden ganz unabhängig entstandenen Arbeiten dürften Gewähr leisten, daß sie in der Hauptsache das Richtige getroffen haben.

Nun bestehen allerdings auch einige Verschiedenheiten zwischen Boveris und meinen Resultaten, auf welche ich aber deshalb nicht genauer einzugehen brauche, weil sie zumeist Punkte von geringerer Bedeutung betreffen, und weil Boveri in einer Nachschrift, in welcher er meine ganz kurz zuvor erschienene vorläufige Mitteilung bespricht, sich darüber schon geäußert hat. Daher möchte ich mich auf folgende Bemerkung beschränken: Zunächst kann ich die Beobachtung Boveris, daß beide Heterochromosomen in ein und dieselbe Spermatide gelangen können, durchaus bestätigen, wie aus dem auf Seite 120 Gesagten hervorgeht, doch habe ich dieses Verhalten ebenfalls nur einmal gesehen und

fasse es daher nicht als normal auf. Aber die Angabe Boveris, daß er weder die Ablösung der Spermien von den Restkörpern, noch die letzteren nach ihrer Ablösung zwischen den fertigen Spermien fand, muß doch Bedenken hervorrufen, ob meine Darstellung wirklich zutreffend ist. Daher habe ich meine Präparate nochmals durchgesehen, kam aber zu dem gleichen Ergebnis wie zuvor und habe auch nicht finden können, daß Spermien oder Spermatiden degenerieren, höchstens könnte das nur bei einer sehr geringen Zahl derselben der Fall sein. In der Überzeugung, daß ich in diesem Punkte mich nicht täusche, bestärkt mich die freundliche Mitteilung von Herrn Dr. Kühn, daß er bei getrenntgeschlechtlichen Nematoden ebenfalls die Ablösung der Spermien von Restkörpern gefunden hat, und ich habe mich an seinen Präparaten selbst vergewissern können, daß bei diesen Nematoden die Restkörper ebenso entstehen und aussehen wie bei *Angiostomum*. Fehlen die Stadien der Bildung der Restkörper und findet man sie bloß losgelöst zwischen den fertigen Spermien, so liegt die Annahme sehr nahe, daß sie nichts andres als degenerierte Spermien sind.

Literaturverzeichnis.

Angel, P. 1903. Histogénèse et structure de la glande hermaphrodite d'Helix pomatia (Linn.). In: Arch. de Biol. Tom. XIX.

Baehr, W. B. von. 1909. Die Oogenese bei einigen viviparen Aphididen und die Spermatogenese von Aphis saliceti, mit besonderer Berücksichtigung der Chromatinverhältnisse. In: Arch. f. Zellforschung. Bd. III.

Beneden, van, et Ch. Julin. 1884. La spermatogénèse chez l'Ascaride mégalocéphale. In: Bull. Acad. Belgique (3). Vol. VII.

Blanckertz, R. 1910. Die Ausbildung der Tetrade im Ei von Ascaris megalocephala univalens. In: Arch. für Zellforschung. Bd. VI.

Boring, A. M. 1909. A small chromosome in Ascaris megalocephala. In: Arch. für Zellforschung. Bd. IV.

Boveri, Th. 1899. Die Entwicklung von Ascaris megalocephala mit besonderer Rücksicht auf die Kernverhältnisse. In: Festschrift zum 70. Geburtstag von C. v. Kupffer.

—— 1908. Über Beziehungen des Chromatins zur Geschlechtsbestimmung. In: Sitzungsber. d. Phys.-med. Gesellsch. zu Würzburg. Jahrgang 1908/1909.

—— 1909. Über »Geschlechtschromosomen bei Nematoden«. In: Arch. für Zellforschung. Bd. IV.

Brauer, A. 1893. Zur Kenntnis der Spermatogenese von Ascaris megalocephala. In: Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. XLII.

Cardiff, J. 1906. A study of synapsis and reduction. In: Contribut. from the Dept. of Bot. of Columbia Univ., Nr. 228; Bull. of the Torrey Bot. Club. Vol. XXXIII.

Edwards, C. L. 1910. The idiochromosomes in Ascaris megalocephala and Ascaris lumbricoides. In: Arch. für Zellforschung. Bd. V.

Goette, A. 1882. Untersuchungen zur Entwicklungsgeschichte der Würmer. 1. Teil.

Hertwig, O. 1880. Die Chaetognathen. Eine Monographie. In: Jenaische Zeitschr. für Naturwiss. Bd. XIV. N. F. Bd. VII.

— 1890. Vergleich der Ei- und Samenbildung bei Nematoden. In: Arch. für mikrosk. Anat. Bd. XXXVI.

Kühn, A. 1908. Die Entwicklung der Keimzellen in den parthenogenetischen Generationen der Cladoceren Daphnia pulex De Geer und Polyphemus pediculus De Geer. In: Arch. für Zellforschung. Bd. I.

Kuschakewitsch, S. 1910. Die Entwicklungsgeschichte der Keimdrüsen von Rana esculenta. Ein Beitrag zum Sexualitätsproblem. In: Festschr. z. 60. Geburtstage R. Hertwigs. Bd. II.

Lams, H. 1908. Les divisions des spermatocytes chez la fourmi (Camponotus herculeanus L.), In: Arch. für Zellforschung. Bd. I.

Leuckart, R. 1865. Helminthologische Experimentaluntersuchungen. 4. Reihe. In: Göttinger Nachrichten. Jahrgang 1865. Nr. 8.

Marcus, H. 1906. Ei- und Samenreife bei Ascaris canis (Ascaris mystax). In: Arch. für mikroskop. Anat. Bd. LXVIII.

Mayer, A. 1908. Zur Kenntnis der Samenbildung bei Ascaris megalocephala. In: Zool. Jahrb., Abt. für Anat. und Ont. Bd. XXV.

Maupas, E. 1900. Mode et formes de reproduction des Nematodes. In: Arch. de zool. expér. et gén. 3. Sér. Vol. VIII.

Mc Dowall, S. A. 1906. A preliminary note on the maiotic phenomena in the eggs of the hermaphrodite »Angiostomum nigrovenosum« (»Ascaris nigrovenosa«). In: Proc. Cambridge. Phil. soc. Vol. XIII.

Metschnikoff, E. 1865. Über die Entwicklung von Ascaris nigrovenosa. In: Arch. für Anat. u. Physiol. Jahrg. 1865.

Meves, F. 1907. Die Spermatocytenteilungen bei der Honigbiene. In: Arch. für mikrosk. Anat. Bd. LXX.

Montgomery jr., Th. H. 1906. Chromosomes in the spermatogenesis of the Hemiptera heteroptera. In: Transact. amer. phil. soc. n. s. Vol. XXI.

— 1910. On the dimegalous sperm and chromosomal variation of Euschistus with reference to chromosomal continuity. In: Arch. für Zellforschung. Bd. V.

Morgan, T. H. 1909. A biological and cytological study of sex determination in Phylloxerans and Aphids. In: Journ. of exper. Zool. Vol. VII.

Payne, F. 1910. The chromosomes of Acholla multispinosa. In: Biol. Bull. Vol. XVIII.

— 1909. Some new types of chromosome distribution and their relation to sex. In: Biol. Bull. Vol. XVI.

Scheben, L. 1905. Beiträge zur Kenntnis des Spermatozoons von Ascaris megalocephala. In: Zeitschr. für wiss. Zool. Bd. LXXIX.

Schleip, W. 1908. Die Richtungskörperbildung im Ei von Formica sanguinea. In: Zool. Jahrb. Abt. für Anat. u. Ont. Bd. XXVI.

— 1911. Über die Chromatinverhältnisse bei Angiostomum (Rhabdonema) nigrovenosum. Berichte d. naturforsch. Ges. Freiburg i. Br. Bd. XIX.

Schneider, A. 1866. Monographie der Nematoden. Berlin.

Stevens, N. M. 1906. Studies in Spermatogenesis. Part II. Carnegie Inst. of Washington. Publ. Nr. 3. Part II.

—— 1909. An unpaired chromosome in the Aphids. In: Journ. of exper. zool. Vol. VI.

Strasburger, E. 1910. Über geschlechtsbestimmende Ursachen. In: Jahrb. für wiss. Bot. Bd. XLVIII.

Strassen, O. zur 1895. Embryonalentwicklung der Ascaris megalocephala. In: Arch. f. Entwicklungsmech. d. Org. Bd. III.

Tretjakoff, D. 1904a. Die Spermatogenese bei Ascaris megalocephala. In: Arch. für mikrosk. Anat. Bd. LXV.

—— 1904b. Die Bildung der Richtungskörperchen in den Eiern von Ascaris megalocephala. In: Arch. für mikrosk. Anat. Bd. LXV.

Wilson, E. B. 1905—1909. Studies on chromosomes. 1—5. Journ. of exper. Zool. Vol. II, III und VI.

—— 1909. Recent researches on the determination and heredity of sex. In: Science. N. S. Vol. XXIX.

Ziegler, H. E. 1895. Untersuchungen über die ersten Entwicklungsvorgänge der Nematoden. In: Zeitschr. für wiss. Zool. Bd. LX.

Zoja, R. 1896. Untersuchungen über die Entwicklung der Ascaris megalocephala. In: Arch. für mikrosk. Anat. Bd. XLVII.

Erklärung der Abbildungen.

Die Abbildungen sind mit Hilfe des Abbeschen Zeichenapparats auf Objekttischhöhe entworfen; und zwar Fig. 1—6 mit Zeiss Apochrom. Immers. 3 mm, Compensat. Oc. 4 und Tubuslänge 16 cm; alle andern Figuren (mit wenigen, unten näher bezeichneten Ausnahmen) mit Apochrom. Immers. 1.5 mm, Compensat. Oc. 12 und Tubuslänge 16 cm.

Bezeichnungen.

Deg, degenerierende Zelle;

H_1 und H_2, die beiden Heterochromosomen; wo miteinander vereinigt, mit H bezeichnet;

N, Nucleolus;

Ov, Ovocyte;

Pl, kernloser Plasmaklumpen;

Rh, Rhachis;

Rst, Restkörper der Spermatiden;

RT_1 und RT_2, Stadien der ersten und der zweiten Samenreifungsteilung;

Sp, Spermatozoon;

Spc, Spermatocyte;

Spd, Spermatide;

Syn, Synapsiszone;

ÜZ, Zelle bzw. Kern der Übergangsregion;

Z_1—Z_3, verschieden große Zellen der Degenerationsregion.

Tafel IV.

Hodenzonen.

Fig. 1. Längsschnitt durch Synapsiszone und Anfang der Wachstumszone einer Keimröhre. Oben Synapsiszone, rechts heranwachsende Ovocyten, links jüngste Hodenanlage.

Fig. 2. Längsschnitt durch eine fertig angelegte Hodenzone. Oben und unten Ovocyten: in der Mitte Spermatocyten; an deren oberer Grenze Übergangsregion.

Fig. 3—5. Längsschnitt durch eine ältere Hodenzone mit entwickelter Degenerationsregion, in drei Teile zerlegt (siehe Text Seite 102).

Fig. 3. Oberster Teil; scharfe Grenze zwischen normalen Ovocyten und Spermatocyten.

Fig. 4. Oben Spermatocyten, rechts degenerierende Zellen; nach unten gehen die Spermatocyten allmählich in die Degenerationsregion über.

Fig. 5. Unterer Teil; Übergang der Degenerationsregion in die normalen Ovocyten.

Fig. 6. Ältere Hodenzone, in welcher die Spermatogenese im Gang ist; Degenerationsregion (rechts) nur teilweise gezeichnet.

Tafel V.

Fig. 7. Übergangsregion an der oberen Grenze einer jüngeren Hodenzone. Teil eines Längsschnitts.

Ovogenese.

Fig. 8. Längsschnitt durch den Anfang einer Keimröhre. *3*, Endzelle. Vergrößerung: Apochrom. Immers. 1.5; Compens. Oc. 6; Tubuslänge 16 cm.

Fig. 9—11. Ovogonien. Fig. 9 vom Anfang der Keimzone; Fig. 10 vom Ende derselben; Fig. 11 großer Kern vom Ende der Keimzone.

Fig. 12—14. Stadien der Prophase von Ovogonienteilungen. Fig. 13 vom Anfang, Fig. 14 aus der Mitte der Keimzone.

Fig. 15—18. Polansichten von Äquatorialplatten aus der Keimzone. Fig. 15 weiter oben, Fig. 18 weiter am Ende der Keimzone gelegen.

Fig. 19. Seitliche Ansicht einer Ovogonienmitose; ein Chromosom liegt abseits.

Fig. 20—22. Ovocyten erster Ordnung; Übergang zum Synapsisstadium.

Fig. 23 u. 24. Höhepunkt der Synapsis.

Fig. 25—27. Auflösung des synaptischen Knäuels und Beginn des Wachstums.

Fig. 28. Sichtbarwerden einer Längsspalte.

Fig. 29 u. 30. Wachstumsstadien.

Fig. 31. Beginn der Chromosomenentwicklung. (Ebenso wie Fig. 32a mit Compensat. Oc. 6 statt 12 gezeichnet, also nur halb so stark vergrößert).

Fig. 32. Kern mit 6 Chromosomen; 32b. Drei der Chromosomen bei derselben Vergrößerung wie die andern Figuren (Fig. 9 usw.) gezeichnet.

Fig. 33 u. 34. Weitere Entwicklung der Chromosomen; bei * die Einheiten eines Doppelchromosoms weiter voneinander getrennt. In der Grundsubstanz der Kerne ein strahliger Bau erkennbar.

Fig. 35. Strahlung um die Chromosomen (nur einige im Schnitt) nach Auflösung der Kernmembran.

Tafel VI.

Fig. 36 u. 37. Spätere Prophasestadien der ersten Reifungsteilung.

Fig. 38 u. 39. Äquatorialplatten der ersten Reifungsteilung in Polansicht.

Fig. 40 u. 41. Seitliche Ansicht derselben.

Fig. 42. Erste Richtungsspindel, in welcher statt sechs, ungefähr zwölf Chromosomen vorhanden sind.

Fig. 43—45. Spätere Stadien der ersten Reifungsteilung.

Fig. 46. Erster Richtungskörper abgeschnürt; Äquatorialplatte der zweiten Richtungsteilung.

Fig. 47. Übersicht über ein Ei auf diesem Stadium; *Sp*, eingedrungenes Spermatozoon; *Dm*, Dottermembran; 1. *RK*, erster Richtungskörper; 2. *RSp*, zweite Richtungsspindel. Schwache Vergrößerung.

Fig. 48 u. 49. Zweite Richtungsspindel.

Fig. 50. Erster und zweiter Richtungskörper (letzterer nicht abgeschnürt) und weiblicher Pronucleus, in welchem die Chromosomen nur noch undeutlich sichtbar sind.

Zellen aus der Degenerationszone und degenerierte Zellen.

Fig. 51—56. Sechs Stadien der Größenabnahme von Ovocyten in der Degenerationszone. Erklärung siehe Text (Seite 104).

Fig. 57. Degenerierte Zelle.

Fig. 58. Degenerierende und aneinandergelagerte Kerne.

Fig. 59. Degenerierende Zelle, welche zwei Spermatozoen enthält.

Tafel VII.

Spermatogenese.

Fig. 60—62. Spermatocyten erster Ordnung; ein Heterochromosom entwickelt.

Fig. 63—65. Auch das zweite Heterochromosom erschienen.

Fig. 66—72. Spätere Prophasestadien; auch die übrigen Chromosomen aufgetreten.

Fig. 73—75. Äquatorialplatten der ersten Samenreifungsteilung in Polansicht.

Fig. 76. Dasselbe bei schräger Ansicht.

Fig. 77 u. 78. Zwei in Prophase befindliche Spermatocytenkerne mit gepaarten Heterochromosomen.

Fig. 79 u. 80. Zwei ebensolche mit weiter ausgebildeten Chromosomen; Heterochromosomen nicht von den andern zu unterscheiden.

Fig. 81 u. 82. Metakinesis; erste Samenreifungsteilung; auf jeder Seite zwei Chromosomen sich verspätend.

Fig. 83 u. 84. Spätere Stadien derselben Teilung.

Fig. 85. Zwei Spermatocyten zweiter Ordnung, Schwesterzellen; in jeder fünf geteilte und zwei ungeteilte Chromosomen.

Fig. 86 u. 87. Äquatorialplatten der zweiten Samenreifungsteilung; die fünf gewöhnlichen Chromosomen schon durchgeteilt.

Fig. 88 u. 89. Tochterplatten der zweiten Samenreifungsteilung.

Fig. 90. Dasselbe, in der einen sieben, in der andern fünf Chromosomen; siehe Text (Seite 120).

Fig. 91. Die zwei Heterochromosomen bei der Teilung sich verspätend.

Fig. 92. Das eine Heterochromosom ganz zurückbleibend.

Fig. 93—96. Umbildung der Spermatiden zu Spermatozoen; Ausstoßung des einen Heterochromosoms; siehe Text (Seite 121).

Fig. 97 u. 98. Spermatozoen.

Tafel VIII.

Kerne aus den Embryonen der getrenntgeschlechtlichen Generation.

Fig. 99. Prophase der ersten Furchungsteilung; im einen Vorkern sechs, im andern fünf Chromosomen.

Fig. 100. Erste Furchungsteilung; zwei Chromosomengruppen mit fünf bzw. sechs Chromosomen.

Fig. 101. Äquatorialplatte der ersten Furchungsteilung; elf Chromosomen.

Fig. 102. Kern des Zweizellenstadiums in Prophase; elf Chromosomen.

Fig. 103. Kern einer Keimbahnzelle aus einer Blastula; elf Chromosomen.

Fig. 104. Kern einer somatischen Zelle aus einer Blastula; 22 Chromosomen.

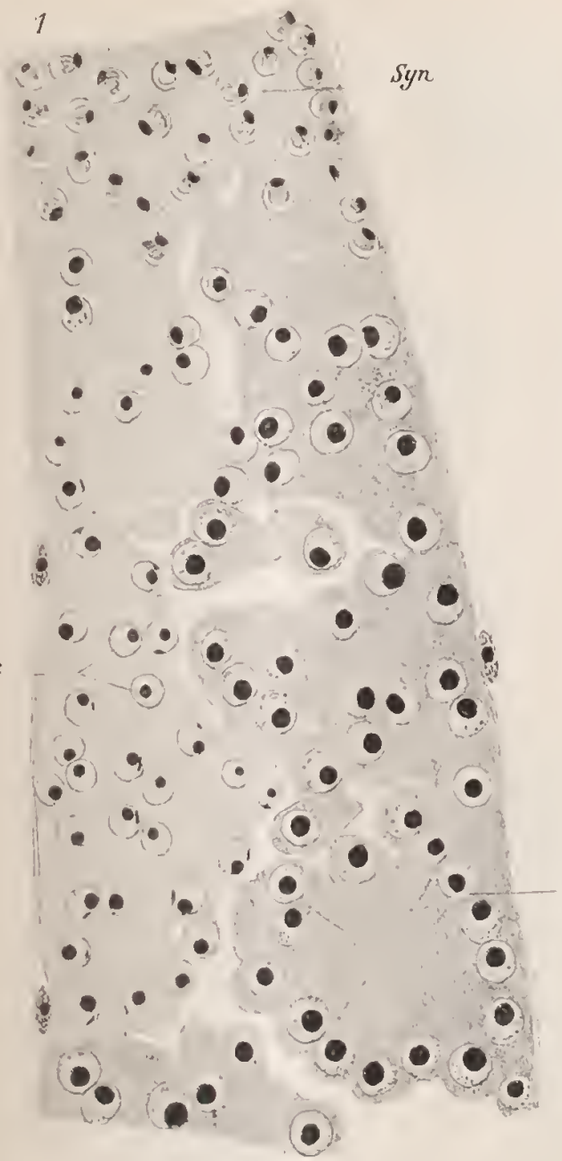
Fig. 105. Beide Vorkerne eines Eies mit je sechs Chromosomen.

Fig. 106a u. b. Beide Kerne des Zweizellenstadiums eines Embryos mit je zwölf Chromosomen.

Fig. 107. Äquatorialplatte einer Keimbahnzelle eines späteren Embryonalstadiums; zwölf Chromosomen.

Fig. 108. Äquatorialplatte einer somatischen Zelle eines späteren Embryonalstadiums; 24 Chromosomen.

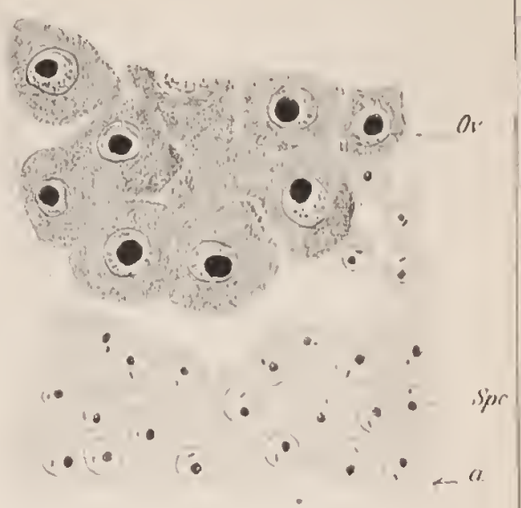
1



2

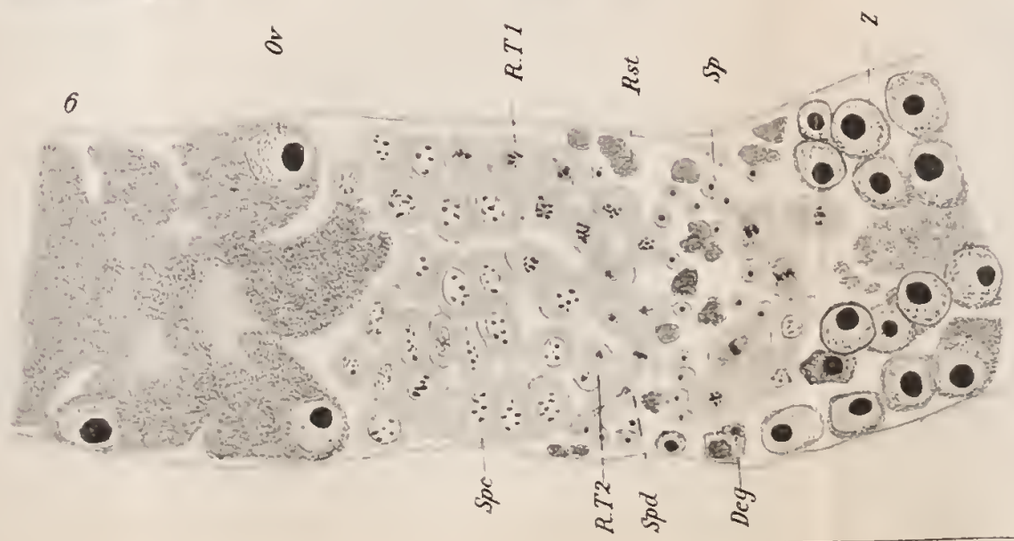
4

3



5

6

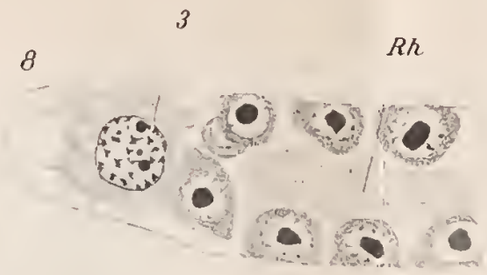


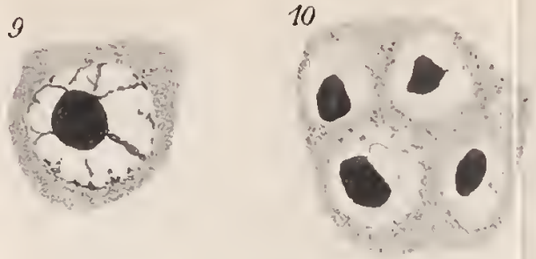
Schiesp. del

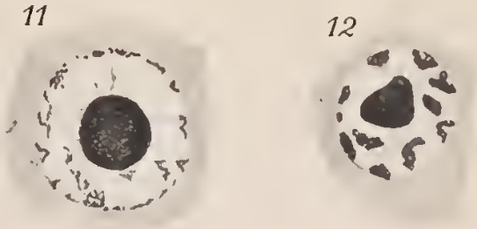
Verlag v Wilhelm Engelmann, Leipzig.

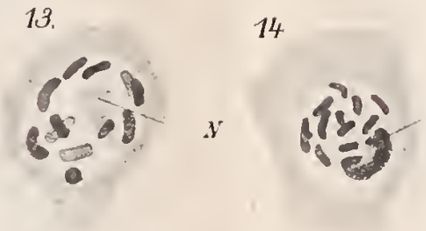
Lichtdruck v C G Roder, G m b H, Leipzig.

7
Ov
Üz
Üz
Üz
Spc

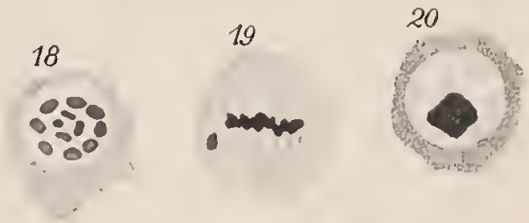

3
8
Rh


9
10

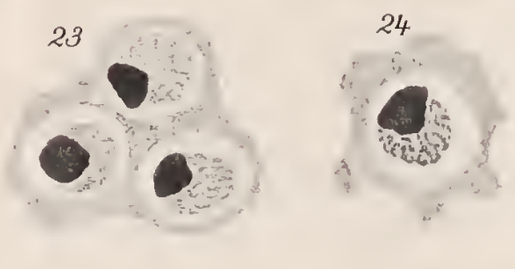

11
12


13.
14
N

15
16
17
N


18
19
20

21
22

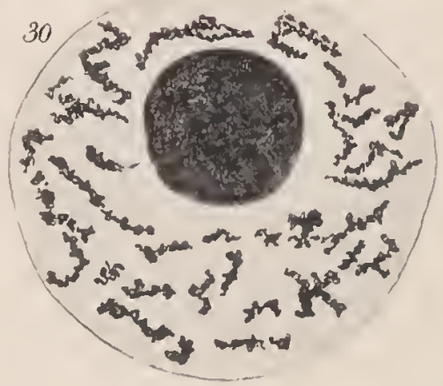

23
24

25
26

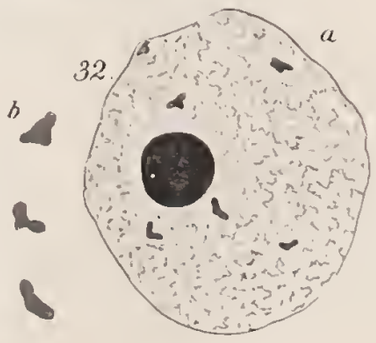
27

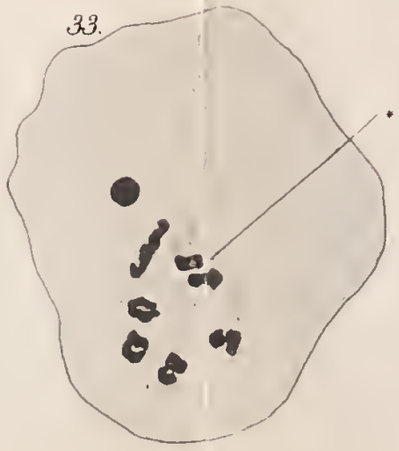
28

29


30

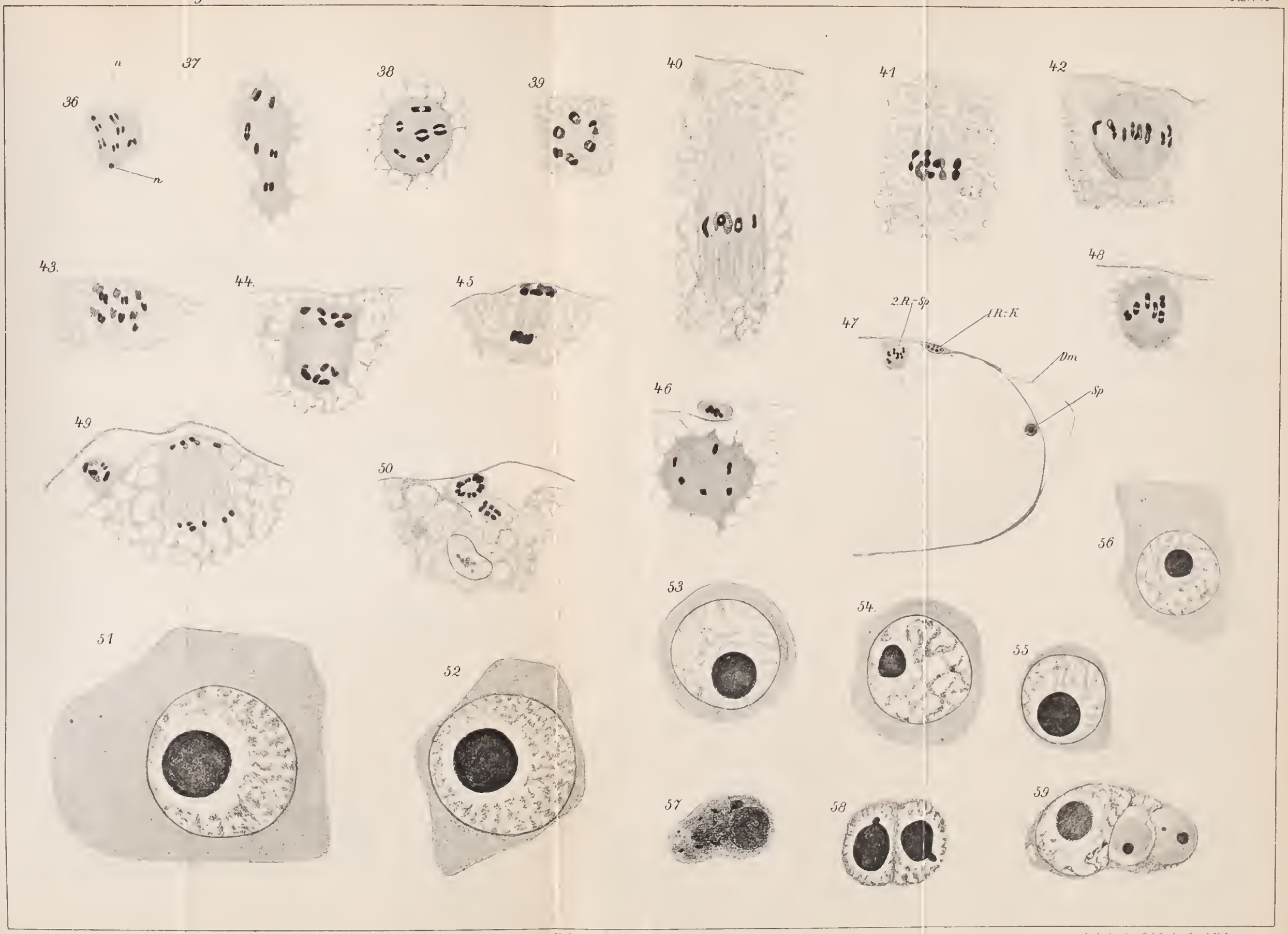
31.


32
a
b


33.

34

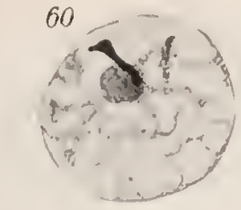
35



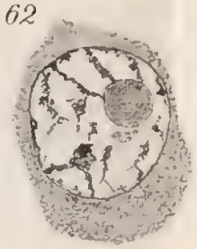
Schleip, del

Verlag v. Wilhelm Engelmann, Leipzig.

Lichtdruck v. C. G. Röder, G.m.b.H. Leipzig


60

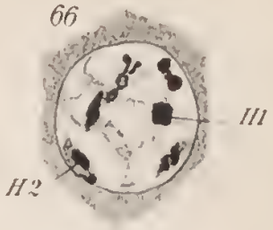
61

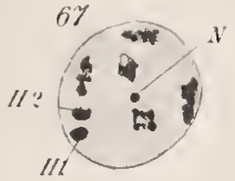

62

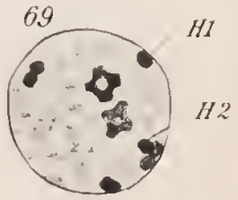
63.

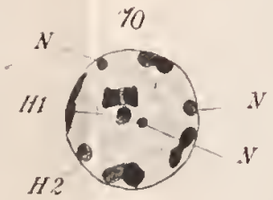
64

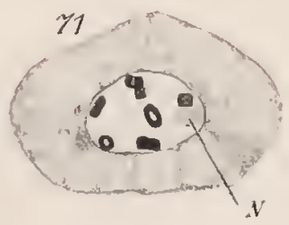
65









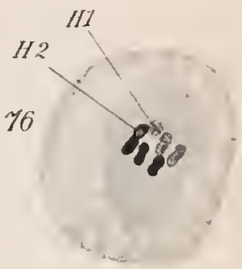


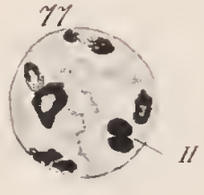
72

73

74

75





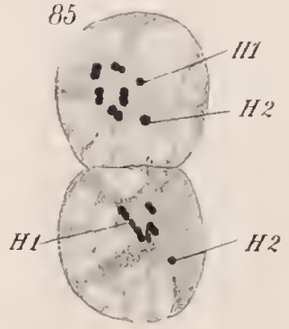
79

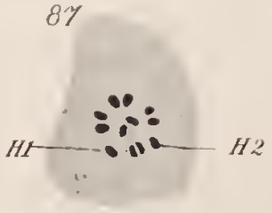
81.

82.

83.

84.





88.

97.

89.

90.

91

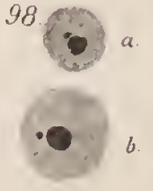
92

93.

94.

95.

96.

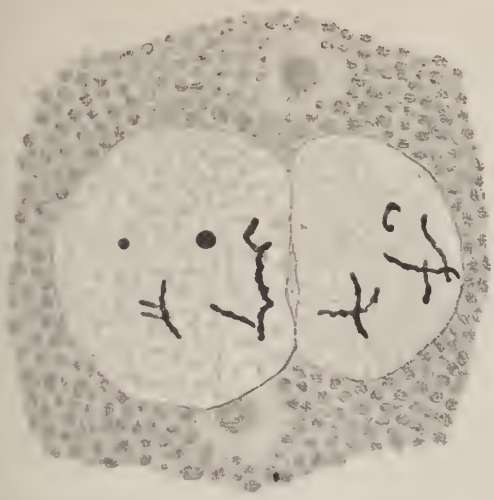


Schleip, del

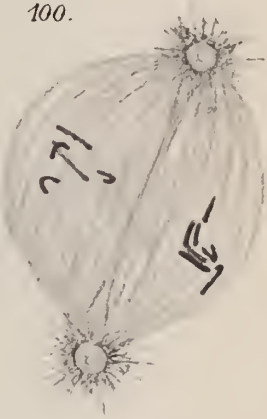
Verlag v Wilhelm Engelmann, Leipzig

Lichtdruck v C G Roder G m b H, Leipzig

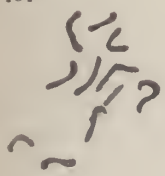
99.



100.



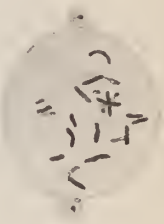
101.



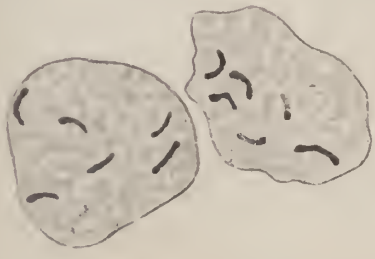
102.

103.

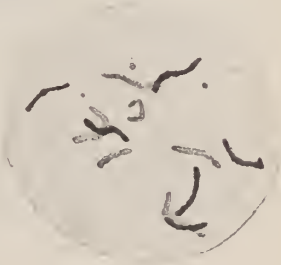
104.



105



106 a.



106 b.

107.

108.

Über den Einfluß hypertonischer Lösungen auf befruchtete Echinideneier (Strongylocentrotus lividus und Echinus microtuberculatus).

Von

Dr. **M. Konopacki**

(Assistent des histologisch-embryologischen Instituts in Lemberg).
(Direktor Prof. Dr. W. Szymonowicz.)

Mit Tafel IX—XI.

Die Bedeutung des osmotischen Druckes für die lebende Zelle ist schon des öfteren von verschiedenen Autoren untersucht worden. Einen beträchtlichen Teil dieser Untersuchungen bilden die Studien über die Bedeutung des osmotischen Druckes für die Entwicklung überhaupt und insbesondere für diejenige der Eizellen. Die glänzendsten Resultate in dieser Hinsicht lieferten die Untersuchungen über die künstliche Parthenogenese. Loeb (24), Morgan (28, 29, 30). Wilson (39), Kostanecki (18, 19, 20), Delage (53, 54), Bataillon (1) u. a. bedienten sich hypertonischer Lösungen von verschiedener chemischen Zusammensetzung, um unbefruchtete Eier verschiedener Tierspecies zur Entwicklung anzuregen und gelangten oft zu sehr weit fortgeschrittenen Entwicklungsstadien.

In viel geringerem Grade schenkte man bisher seine Aufmerksamkeit dem Einfluß hypertonischer Lösungen auf befruchtete und in Furchung begriffene Eier, vielmehr wurden Versuche nach dieser Richtung hin nur beiläufig bei den Untersuchungen über künstliche Parthenogenese angestellt.

Die Versuche Loebs vom Jahre 1892 (59) haben gezeigt, daß bei befruchteten Eiern von *Arbacia* während ihres Verweilens in einer hypertonischen Lösung, die aus Meerwasser mit einem Zusatz von gewissen Mengen NaCl bestand, die Plasmateilung hintangehalten wurde, während sich die Kerne weiterteilten; wurden dann derartige Eier in normales

Meerwasser gebracht, so teilten sie sich sofort in mehrere Zellen, je nach der Zahl der im Ooplasma vorhandenen Kerne. Verweilten hingegen die Eier in besagter Lösung 12—24 Stunden, so teilten sie sich nicht mehr, auch wenn sie in normales Meerwasser gebracht wurden. Überdies hat dieser Autor die Beobachtung gemacht, daß Eier, welche im Zweiblastomerenstadium der Einwirkung der hypertonischen Lösung ausgesetzt wurden, nach Übertragung in Meerwasser sich sofort teilten, während ungeteilte Eier dazu mindestens 20 Minuten Zeit brauchten.

Norman (32) hat ähnliche Versuche an *Arbacia* und zwei Fischen (*Ctenolabrus* und *Fundulus*), die er der Einwirkung von Meerwasser mit einem Zusatz von $MgCl_2$ aussetzte, durchgeführt und obige Resultate Loebs bestätigt.

Zu etwas andern Resultaten ist Morgan (28) gelangt, welcher seine Versuche an befruchteten Eiern von *Sphaerechinus* und *Echinus* angestellt hat, jedoch eine Teilung dieser Eier während ihres Verweilens in der hypertonischen Lösung nicht beobachten konnte.

Die Tatsache einer gewissen Unabhängigkeit der Teilung des Kernes von derjenigen des Plasmas sowohl bei befruchteten, wie bei unbefruchteten Eiern, ist in letzter Zeit durch eine Reihe neuerer Forschungen erhärtet worden.

Lillie (21) erhielt bei seinen Versuchen mit befruchteten, wie auch unbefruchteten *Chaetopterus*-Eiern durch Zusatz gewisser Mengen von KCl zu Meerwasser bewimperte, freibewegliche Larven, die aus einer einzigen vielkernigen Zelle bestanden. Kostanecki (20) fand dieselbe Erscheinung ebenfalls sowohl bei befruchteten wie bei unbefruchteten *Mactra*-Eiern durch Zusatz von KCl zu Meerwasser bestätigt.

In ähnlicher Weise beobachteten Scott (36) und Treadwell (55) diese Tatsachen, indem sie unbefruchtete Eier von *Amphitrite* und *Podarke* der Einwirkung hypertonischer Lösungen aussetzten und ebenso Godlewski (5) durch Einwirkenlassen von CO_2 auf *Echinus*-Eier.

Die cytologischen Forschungen, die sich mit dem Einfluß hypertonischer Lösungen auf befruchtete Eier befassen, sind sehr unzureichend. Hervorgehoben zu werden verdienen nur die Untersuchungen Morgans (28, 29, 30), welcher beobachtet hat, daß unter dem Einfluß hypertonischer Lösungen sich in befruchteten Eiern ebensolche Cytaster bilden, wie in unbefruchteten; ferner hat Kostanecki (19) an befruchteten Eiern von *Mysostoma*, welche eine Zeitlang in konzentriertem Meerwasser verweilt waren, gewisse Änderungen im Bau der Kernsubstanz festgestellt, die darin bestanden, daß sich das Chromatin zu größeren oder kleineren kompakten Klümpchen zusammenballte.

Bezüglich des Tempos der Entwicklung selbst haben fast alle Autoren übereinstimmend eine ziemlich beträchtliche Verzögerung desselben festgestellt (Loeb, Morgan und Kostanecki).

In allen angeführten Versuchen wurden die Eier längere Zeit hindurch, gewöhnlich mehrere Stunden lang, der Einwirkung der hypertonischen Lösung überlassen und das Hauptaugenmerk richtete sich hauptsächlich auf die morphologische Seite der Erscheinungen, während die cytologische nur nebenbei und sehr oberflächlich betrachtet wurde. Ebensowenig wurde Rücksicht genommen auf eine temporäre Lokalisation der Vorgänge, d. h. auf die Phase, in welcher sich der Befruchtungsprozeß und die Entwicklung überhaupt gerade befunden hat, als die Eier der Einwirkung der hypertonischen Lösung ausgesetzt wurden. Es ist aber aus Arbeiten über den Einfluß der verschiedensten äußeren Faktoren auf befruchtete Eier vor dem Auftreten der ersten Furchung einerseits und auf solche in den weiteren Furchungsstadien andrerseits hinlänglich bekannt, daß sich die Eier je nach ihrem Entwicklungsstadium äußeren Einwirkungen gegenüber verschieden verhalten (R. und O. Hertwig [13, 57, 58], Brachet [56] und Konopacka [52]).

Darum habe ich in vorliegender Arbeit hauptsächlich bezweckt, die cytologischen Änderungen kennen zu lernen, die bei befruchteten Echinideneiern infolge einer kürzeren Einwirkung hypertonischer Lösungen von verschiedener Konzentration auftreten, wenn die Eier dieser Einwirkung gleich lange und in ein und demselben Entwicklungsmomente ausgesetzt werden; andrerseits war ich bestrebt, die Frage zu beantworten, ob zwischen den Eiern, die in verschiedenen Entwicklungsstadien der Einwirkung einer und derselben hypertonischen Lösung ausgesetzt waren, irgendwelche Unterschiede sich ergeben würden.

Die Lösungen, deren ich mich zur Beantwortung der ersten Frage bedient habe, hatten folgende Konzentrationen:

1. 50 ccm Seewasser + 5 ccm $2^1/_2$-norm. NaCl,
2. 50 ccm » + 8 ccm » » »
3. 50 ccm » + 8,8 ccm » » »
4. 50 ccm » + 9,5 ccm » » » .

Diese Lösungen habe ich während der Dauer von 30—35 Min. auf die Eier einwirken lassen, und zwar 55—70 Min. nach ihrer Besamung, d. h. zu der Zeit, wo sich ein Teil der Eier im Zweiblastomerenstadium befand, während ein andrer sich erst zur Teilung anschickte. Diesen Augenblick habe ich deswegen gewählt, um den Unterschied in der Einwirkung der hypertonischen Lösungen auf geteilte und ungeteilte Eier

feststellen zu können. Die letzteren befanden sich aber in Karyokinese, d. h. in dem Entwicklungsmoment, wo die Kerne beider Geschlechtselemente miteinander völlig verschmolzen und die Kernmembran gelöst war.

Zur Entscheidung der zweiten Frage — inwiefern nämlich die Eier je nach ihrer Entwicklungsphase, in der sie nach der Befruchtung gerade begriffen sind, auf eine und dieselbe hypertonische Lösung reagieren — habe ich gleichfalls etliche Versuche angestellt.

Die erste Serie der Experimente wurde derart ausgeführt, daß mehrere Portionen von Eiern gleichzeitig besamt, dann die einzelnen Portionen nach 3, 5, 10, 15 bzw. 20 Min. in eine aus 50 ccm Seewasser + 8 ccm $2^1/_2$-n. NaCl-Lösung (Lösung 2, Seite 141) bestehende hypertonische Lösung auf die Dauer von 35 Min. eingetragen und dann wieder zurück in das Seewasser gebracht wurden. Der größere Teil der Eier der einzelnen Portionen wurde $1^1/_2$ Stunden nach der Besamung fixiert, der Rest verblieb länger im Meerwasser und gelangte erst 2 Stunden später zur Fixierung.

Die zweite Versuchsreihe bestand darin, daß die Eier 7 Minuten nach der Besamung in die soeben erwähnte hypertonische Lösung 2 (siehe Seite 141) gleichfalls auf die Dauer von 35 Min. eingetragen wurden; in Abständen von je einigen Minuten wurden sie sodann fixiert, und zwar teilweise, wo sie sich noch in der hypertonischen Lösung befanden, teilweise, wo sie bereits in normales Meerwasser übergeführt waren.

Die Versuche der letzten Serie wurden in der Weise angestellt, daß die auf fünf Gefäße verteilten Eier ein und desselben Weibchens nach 10, 25, 40, 55 bezw. 70 Min. nach der Besamung der Einwirkung der hypertonischen Lösung (50 ccm Seewasser + 8,8 ccm $2^1/_2$-n. NaCl-Lösung) auf die Dauer von 35 Min. ausgesetzt, sodann in Seewasser übergeführt und in Abständen von 10—20 Min. fixiert wurden.

Die aus obigen Versuchen resultierenden Daten stützen sich sowohl auf Beobachtungen in vivo, wie auch auf solche an mikroskopischen Präparaten.

Fixiert wurden die Eier teilweise mittels der Boverischen, teilweise mittels der Perenyischen Flüssigkeit, und eingebettet wurden sie doppelt, und zwar zunächst in Celloidin und darauf in Paraffin. Zur Färbung bediente ich mich des Heidenhainschen Hämatoxylins und des Bordeauxrot.

Die in vorliegender Arbeit beschriebenen Versuche habe ich in Krakau im Institut für deskriptive Anatomie unter der Leitung des Herrn Prof. K. Kostanecki begonnen, ergänzte sie alsdann in Triest in der zoologischen Station und beschloß sie in Lemberg im Institut für Histologie und Embryologie.

Der Einfluß hypertonischer Lösungen verschiedener Konzentration auf befruchtete Echinus- und Strongylocentrotuseier.

1. Die Wirkung einer hypertonischen Lösung, bestehend aus 50 ccm Seewasser + 5 ccm $2^1/_2$-n. NaCl-Lösung.

Die Seeigeleier, die fast alle befruchtet waren, wurden 60 Min. nach ihrer Besamung auf die Dauer von 30 Min. in die hypertonische Lösung und darauf wieder zurück in normales Seewasser, welches während des Versuchs mehrmals durch frisches ersetzt wurde, gebracht. Vor der Überführung in die hypertonische Lösung befanden sich einige Prozente der Eier im Zweiblastomerenstadium, die übrigen waren in den verschiedenen Phasen der Karyokinese begriffen.

Die Fixierung der Eier geschah: bei der ersten Portion 15 Min. nach ihrer Überführung aus der hypertonischen Lösung in Seewasser, bei den sieben folgenden Portionen in Abständen von je 10—15 Min., bei der neunten Portion 10 Std. 36 Min. und bei der zehnten Portion 20 Std. 51 Min. nach der Besamung.

In der zuerst fixierten Gruppe sehen wir eine Anzahl von Eiern in zwei Blastomeren geteilt, wovon ein Teil sich bereits zur zweiten Teilung anschickt. Der Rest befindet sich in den verschiedenen Stadien der ersten Mitose.

Durchgreifendere Änderungen lassen sich weder an der Zelleibnoch an der Kernsubstanz feststellen. Eine gewisse Unregelmäßigkeit der karyokinetischen Figur springt in die Augen, und zwar besteht sie in einer Störung der Chromosomenlagerung im Stadium der Metaphase im Vergleich zur normalen. Fig. 1 und 2 zeigen, daß sich die Chromosomen nicht gleichzeitig zu Tochtersternen zusammenlagern; während nämlich ein Teil bereits so weit fortgeschritten ist, befinden sich die andern noch im Stadium der Äquatorialplatte (des Muttersterns). Eine derartige Ungesetzmäßigkeit läßt sich ziemlich häufig sowohl bei ungeteilten Eiern, wie auch an Kernteilungsfiguren der einzelnen Blastomeren beobachten.

Im Stadium der Anaphase nehmen die Chromosomen oft die Gestalt von Bläschen an, die entweder zu einem einzigen Tochterkerne verschmelzen oder zu mehreren kleineren Karyomeren zusammentreten.

Die am meisten in die Augen springende Änderung, die sowohl in vivo wie an Präparaten der später fixierten Eiportionen beobachtet werden konnte, beruhte auf dem Stillstand der Zelleibsteilung. Am häufigsten geschieht dies bei ungeteilten Eiern und nur ausnahmsweise bei Embryonen, die sich im Zweiblastomerenstadium befinden.

Doch auch bei in Teilung begriffenen Eiern lassen sich gewisse Änderungen wahrnehmen, wie z. B. die schiefe Stellung der Furchungsspindel bei der Kernteilung und zuweilen — wenn auch selten — pluripolare Figuren mit drei oder vier Polen. Weit öfter treten hingegen pluripolare Figuren bei solchen Eiern auf, bei denen eine Hemmung der Zelleibsteilung stattgefunden hat.

Die pluripolaren Figuren bilden sich wahrscheinlich infolge der mehrfachen Teilung des Centrosoms, sowie auch infolge der Gegenwart von Cytastern. Die Cytaster treten erst 60 Min. nach der Überführung der Eier in Seewasser auf, und zwar nur bei einer geringen Anzahl von ungeteilten Eiern. Die Zahl der Cytaster ist im allgemeinen unbeträchtlich.

Das Entwicklungstempo ist nur in geringem Grade vermindert. Eine Stunde nach der Übertragung der Eier in normales Meerwasser lassen sich zwei Gruppen von Eiern unterscheiden. Die einen teilen sich in mehr oder weniger normaler Weise bis zum Stadium von 4, 8 oder mehr Blastomeren, während die andern gar keine Zellteilung aufweisen, trotzdem ihre Kerne sich immer weiter teilen und die Kernsubstanzmenge fast in demselben Verhältnis zunimmt, wie bei der ersten Gruppe. Es lassen sich nämlich ungeteilte Eier beobachten, die aber trotzdem vier, sechs und mehr Kerne oder eine dem entsprechende Anzahl karyokinetischer Figuren besitzen (Fig. 3).

Neben mehrkernigen Eiern stoßen wir immer häufiger auf Bilder, aus denen zu ersehen ist, daß solch eine mehrkernige Zelle auf einmal in Plasmasegmente von verschiedener Größe, welche einen, zwei, manchmal auch mehr Kerne umgeben, zu zerfallen beginnt (Fig. 4, 5, 6).

Auch treffen wir — wenn auch sehr selten — Bilder an, wo das Plasma der einen von den beiden ersten Blastomeren seine Fähigkeit zur Teilung eingebüßt hat, während der Kern sich noch weiter teilt (Fig. 7). In derartigen Blastomeren treten ähnlich wie bei ungeteilten Eiern eine größere Anzahl Cytaster sowie pluripolare karyokinetische Figuren auf. Die andere Blastomere hat sich inzwischen in mehrere Zellen geteilt.

Auf Schnitten von Präparaten, die 10 Std. nach der Besamung der Eier fixiert worden sind, sieht man eine ziemlich beträchtliche Menge von mehr oder minder normal entwickelten Anfangsblastulae. Neben diesen gibt es aber noch völlig ungeteilte Eier mit einer beträchtlichen Anzahl von Kernen oder auch mit nur wenigen Riesenkernen (Synkaryonten), die aus der Verschmelzung einer gewissen Anzahl von kleineren hervorgegangen sind.

Fig. 8 weist darauf hin, daß das Plasma einiger Eier erst zu dieser Zeit in einzelne kleine Zellen mit Kernen zu zerfallen beginnt, während

der Rest der Plasmamasse noch ungeteilt ist. Ein weiteres Stadium dieses Prozesses veranschaulicht Fig. 9, wo sich eine Blastula gebildet hat, ähnlich derjenigen, die in meroblastischen Eiern auftritt. Das Dach des Blastocöls setzt sich nämlich aus winzigen cylindrischen Zellen zusammen, während der Boden aus einer einzigen ungeteilten Plasmamasse mit vielen Kernen von verschiedener Größe besteht. Diese Bilder erinnern lebhaft an die von Kostanecki (20) erhaltenen bei unbefruchteten *Mactra*-Eiern.

20 Std. nach der Besamung befindet sich ein beträchtlicher Teil der Eier im Blastulastadium. Während aber die einen von ihnen ganz normal sind, treten bei den andern Veränderungen auf, die darauf hinweisen, daß sich ihre Entwicklung auf anormalem Wege vollzieht. Man kann nämlich bei ihnen Degenerationserscheinungen beobachten, ähnlich denjenigen, wie sie von Godlewski (5) durch Behandlung von Echinideneiern mit CO_2-gesättigtem Seewasser erzielt worden sind.

In den Höhlen dieser Blastulae befinden sich Plasmamassen von verschiedener Größe, die entweder in gar keiner Verbindung miteinander stehen oder noch mit ihren Wänden sich berühren. Diese Plasmamassen besitzen entweder mehrere kleinere oder aber einen oder zwei Riesenkerne (Synkaryonten) (Fig. 10). In den im Blastocöl befindlichen Zellen sehen wir Territorien, die der Resorption und dem Zerfall anheimgefallen sind. Dieser Teil des Plasmas hat seine ursprüngliche Struktur eingebüßt und reagiert auf Plasmafarbstoffe nur sehr schwach. Die soeben besprochenen Bilder in Verbindung mit den Fig. 8 und 9 weisen uns den weiteren Entwicklungsweg derjenigen Eizellen, deren Plasma ihr Teilungsvermögen für eine gewisse Zeit verloren hat. Das Blastocöl bildet sich bei ihnen wie in den von Godlewski (5) berichteten Fällen durch Degeneration und Resorption gewisser centraler Plasmapartien. — Außer dem Blastulastadium stößt man bei diesen Präparaten auch auf frühere Entwicklungsstadien, doch sieht man bei denselben bereits gewisse Degenerationsmerkmale.

Über das Blastulastadium ist die Entwicklung dieser Gruppe nicht hinausgegangen.

II. Die Wirkung einer aus 50 ccm Meerwasser + 8 ccm $2^1/_2$-n. NaCl bestehenden Lösung.

Zu diesem Versuch wurde eine Portion von Eiern desselben Seeigelweibchens angewandt, wie in der ersten Versuchsreihe. Fast alle Eier besaßen eine Membran. 60 Min. nach der Besamung befanden sich einige Prozente der Eier im Zweiblastomerenstadium. Diese Eier wurden auf

die Dauer von 30 Min. in die hypertonische Lösung gebracht, worauf sie wieder zurück in normales Seewasser übergeführt wurden. Fixiert wurden die Eier in denselben Zeitabständen, wie in der ersten Versuchsserie.

Die Änderungen, die unter der Einwirkung dieser Lösung an den Eiern zu beobachten waren, sind im Vergleich mit den oben geschilderten prinzipiell nicht verschieden.

Das Entwicklungstempo ist allerdings bedeutend mehr verzögert, wie bei der ersten Serie; während nämlich dort 20 Min. nach der Übertragung in normales Seewasser ein beträchtlicher Teil der Eier bereits sich teilt, treten hier die Teilungen erst nach 60 Min. ein. Zuerst beginnen sich die im Zweiblastomerenstadium befindlichen Eier zu teilen. Die Mehrzahl der Eier bleibt jedoch ungeteilt.

Die Änderungen am Plasma äußern sich in dem ziemlich frühzeitigen Auftreten von Cytastern in größerer Anzahl. Denn bereits eine halbe Stunde nach Überführung der Eier in Seewasser erscheinen die Cytaster und lagern sich vornehmlich an der Peripherie, konzentrisch zur Oberfläche, in einer oder mehreren Reihen. Es läßt sich unter ihnen eine ziemlich energische Tendenz zur weiteren Teilung wahrnehmen, indem man nämlich ziemlich häufig die von Wilson (39) beschriebenen Bilder antrifft, welche winzige Spindeln mit Centren an den Polen, die noch von der gemeinsamen archoplasmatischen Masse mit deutlicher Strahlung umgeben sind, darstellen. Die Cytaster besitzen sich deutlich dunkler färbende Centrosomen. Die Teilung der Cytaster geht am häufigsten, wenn auch nicht immer mit der Teilung der Kerne gleichzeitig einher.

An den Kernen lassen sich anfänglich nach Überführung der Eier in Seewasser keine prinzipiellen Änderungen wahrnehmen; nur in den karyokinetischen Figuren sieht man das bereits in der ersten Serie beschriebene ungleichzeitige Wandern der Chromosomen. In sehr seltenen Fällen unterliegt das Chromatin durchgreifenderen Änderungen, die darin bestehen, daß sich das Chromatin zu Klümpchen von verschiedener Größe und Gestalt zusammenballt.

Trotzdem die Teilung des Plasmas zum Stillstand gekommen ist, vollzieht sich die Teilung der Kerne sowie das Anwachsen der Kernsubstanz auch weiterhin. Im Vergleich jedoch mit der ersten Serie macht sich schon eine gewisse Verzögerung dieses Prozesses bemerkbar. Drei Stunden nach der Besamung treten Zellen mit sechs und mehr Kernen auf, in deren Umgebung das Plasma das Bestreben nach territorialer Absonderung und Teilung verrät (Fig. 11).

Man stößt auch bei diesen Eiern auf mehrere karyokinetische Figuren, nur daß diese infolge der Bildung einer größeren Zahl von Cytastern und

der mehrmaligen Teilung des Centrosoms in der Gestalt von pluripolaren Figuren auftreten.

Was übrigens das Auftreten von Cytastern anbelangt, so muß bemerkt werden, daß sie bei dem größten Teile der ungeteilten und nur ausnahmsweise bei geteilten Eiern zu beobachten waren. Die Eier mit einer größeren Menge von Cytastern weisen nirgends eine Plasmateilung auf, während diejenigen ohne Cytaster sich entweder je nach der Kernzahl in mehrere Zellen teilen oder das Bestreben nach Teilung durch Furchenbildung und Abgrenzung einzelner Plasmaterritorien äußern.

Dieselbe Erscheinung läßt sich auch an denjenigen Blastomeren allein oder denjenigen geteilten Eiern als solchen beobachten, in denen eine größere Zahl von Cytastern aufgetreten ist. Nirgends zeigen sie eine Tendenz zur Teilung.

Unter den Präparaten von Eiern, die $3^1/_2$ Std. nach der Besamung fixiert worden sind, stößt man häufig auf solche, die in zwei oder vier Blastomeren geteilt sind und eine beträchtlichere Anzahl von Cytastern besitzen. Diese Erscheinung trifft gerade mit demjenigen Moment zusammen, in welchem die Entwicklung der Eier dieser Serie überhaupt zum Stillstand kam und die Eier alsbald gänzlich sich zu teilen aufhörten. Die weitesten Entwicklungsstadien dieser Serie reichen bis zu 16 Zellen.

An diesem frühzeitigen Stillstand des Entwicklungsprozesses mag vielleicht zum Teil die weite Reise von Triest nach Lemberg und die dadurch bedingte Schwächung der Seeigel schuld sein. Von den befruchteten Eiern, die zur Kontrolle in normalen Entwicklungsbedingungen belassen waren, gelangte nur ein Teil zum frühen Pluteusstadium, während ein andrer Teil in seiner Entwicklung noch früher, nämlich im Blastula- und Gastrulastadium, zum Stillstand kam.

III. Die Wirkung einer aus 50 ccm Meerwasser + 8,8 ccm $2^1/_2$-n. NaCl-Lösung bestehenden hypertonischen Flüssigkeit.

Zu diesen Versuchen habe ich zwei Portionen von *Strongylocentrotus*-Eiern angewandt, die 55 bzw. 70 Min. nach der Besamung auf die Dauer von 35 Min. der Einwirkung der hypertonischen Lösung ausgesetzt und darauf wieder zurück in das normale Seewasser gebracht wurden.

Fast alle Eier waren befruchtet. Fixiert wurden sie 10, 40 und 50 Min. nach ihrer Überführung in Meerwasser. Vor dem Einbringen in die hypertonische Lösung waren nur sehr wenige Eier, und zwar nur von der zweiten Serie, geteilt. Die Mehrzahl befand sich in den verschiedenen Phasen der Karyokinese, ein andrer Teil wies noch keine Veränderungen am Kern auf, befand sich somit bestenfalls in den Anfängen der Prophase.

An den Präparaten, welche 10 Min. nach der Überführung der Eier in Seewasser fixiert worden sind, treten besonders die Änderungen an den Kernen hervor. Bei der Mehrzahl der Eier, deren Kern in der Mitose begriffen war, hat das Chromatin ausgesprochene Änderungen erlitten, die sich darin äußern, daß sich das letztere zu Klümpchen von verschiedener Größe und von verschiedener Form zusammenballt, ja mitunter sogar eine kompakte Masse darstellt. Die Furchungsspindel hat die Schärfe ihrer Konturen eingebüßt und ist oft entweder überhaupt nicht sichtbar oder doch nur schwach angedeutet.

Die geschilderten Änderungen sind sehr ähnlich, mitunter sogar identisch mit denjenigen, die unter dem Einfluß der stärksten aller angewandten Lösungen (Nr. 4, Seite 141) zutage getreten sind. Aus diesem Grunde behalte ich mir ihre detaillierte Beschreibung im Zusammenhange mit der letzten vor.

Neben Eiern, bei denen beträchtliche Änderungen in der Struktur der Kernsubstanz zu beobachten waren, sieht man auch solche, die überhaupt keine Änderungen an den Kernen aufweisen. Letztere waren mit einer Membran versehen und befanden sich entweder im Ruhestadium oder in den ersten Anfängen der Prophase. Unter den Präparaten, die 40 und 50 Min. nach Überführung der Eier in Seewasser fixiert wurden, befand sich gleichfalls ein Teil mit ausgesprochenen Veränderungen neben solchen, die eine fast reguläre Mitose aufwiesen. Und gerade solche Mitosen treten, wie es mir scheint, nur bei solchen Eiern auf, welche von der hypertonischen Lösung noch vor der Bildung der mitotischen Figur beeinflußt worden sind.

Die morphologischen Änderungen am Plasma betreffen hauptsächlich die Bildung der Cytaster. Ihre Menge ist nicht allzu groß und beim Betrachten dieser Präparate gewinnt man den Eindruck, als ob die Cytaster in denjenigen Eiern zahlreicher aufträten, welche während ihres Verweilens in der hypertonischen Lösung im Stadium der Kernkopulation begriffen waren und die mitotische Figur noch nicht erreicht hatten. Darum findet man auch bei letzteren Eiern öfters pluripolare mitotische Figuren.

Der Plasmateilungsprozeß ist gehemmt, denn 50 Min. nach Überführung der Eier in Seewasser gelangen nur ganz vereinzelte Eier zur Teilung. Die Kernteilung dagegen, sowie die Zunahme der Kernsubstanzmenge schreitet weiter fort, und ein bedeutender Teil der Zellen besitzt zu dieser Zeit bereits zwei Kerne, ja einige sind sogar bereits in der zweiten Teilung begriffen.

Über das Zweiblastomerenstadium hinaus konnte ich den weiteren Entwicklungsgang der Eier dieser Serie nicht beobachten.

IV. Der Einfluß einer aus 50 ccm Meerwasser + 9,5 ccm $2^1/_2$-n. NaCl-Lösung bestehenden hypertonischen Lösung.

In dieser Serie war der Verlauf der Versuche ähnlich demjenigen der vorhergehenden. Die *Strongylocentrotus*-Eier, die fast alle mit einer Membran versehen waren, wurden 60 Min. nach der Besamung auf die Dauer von 30 Min. in die hypertonische Lösung gebracht. Bevor dies geschehen war, war ein ansehnlicher Teil der Eier, etwa 50%, bereits geteilt und befand sich im Zweiblastomerenstadium, während der Rest in den verschiedenen Stadien der Karyokinese begriffen war.

Die Eier dieser Serie wurden teilweise noch während ihres Verweilens in der hypertonischen Lösung, teilweise nach ihrer Überführung in Seewasser in Abständen von 5—20 Min. fixiert. Die vorletzte Portion gelangte nach 2 Std. 50 Min., die letzte nach 16 Std. 50 Min. nach der Besamung zur Fixierung. Direkt aus der hypertonischen Lösung heraus wurde eine Portion nach 15 Min., eine andre nach 28 Min. langem Verweilen in der hypertonischen Lösung fixiert.

Während des Verweilens der Eier in der Lösung konnte man sowohl in vivo, wie an Präparaten Symptome von Plasmolyse beobachten, die sich in einer Änderung der Gestalt und der Größe der Eioberfläche äußerten. Ihre Form wurde unregelmäßig und runzelig, ihr Volumen nahm ab.

Auch die Strahlungen verkürzten sich, dagegen konnte man, besonders in den centralen Partien, das Auftreten von winzigen, verstreuten weißen Fleckchen beobachten, die sich an mikroskopischen Präparaten als Cytaster entpuppten.

An denselben Präparaten konnte man auch die Beobachtung machen, daß bereits nach 15 Min. nicht nur die Strahlung, sondern auch das Plasma selbst gewisse Veränderungen erlitten hat. Die sonst regelmäßige Struktur des Eies erscheint nunmehr ziemlich gestört, es treten wolkenartige Zusammenballungen von Hyaloplasma auf, die bereits von Morgan (28, 29) beschrieben worden sind. Auf Präparaten, die nach 28 Min. fixiert worden sind, beginnen diese Gebilde zu verschmelzen und nehmen eine regelmäßigere, strahlenförmige Struktur an. Es muß jedoch bemerkt werden, daß sie vorwiegend um die die mitotische Figur umgebende Strahlung herum, ja sogar mitten in derselben auftreten. Bei Betrachtung dieser Präparate gewinnt man den Eindruck, als ob diese Cytaster ihre Entstehung dem Material dieser Strahlungen selbst verdankten, mit andern Worten, als ob dieses ganze Strahlungsmaterial, statt sich um ein einziges Centrum zu sammeln, sich verstreute und um verschiedene centrale

Punkte herum anordnete. In diesen Punkten sind vorläufig Partikelchen, die sich ausgesprochen unterschiedlich färbten, nicht zu sehen, sondern nur eine ganz winzige Menge einer feinkörnigen Plasmamasse (Fig. 12).

Die Kerncentrosomen nehmen an der Bildung der Cytaster keinen Anteil, doch kann man auch bei ihnen gewisse Veränderungen wahrnehmen. Sie bekommen ein schwammiges Aussehen und in ihrem Innern treten einige Körnchen — ähnlich wie Centriolen — auf.

Ebenso durchgreifende Änderungen lassen sich an der Kernsubstanz überhaupt beobachten. Befand sich der Kern in Mitose, so verschmelzen die Chromosomen zu einer einzigen kompakten Chromatinmasse; in der Pro- und der Telophase zeigt das Chromatin gleichfalls gewisse, wenn auch nicht beträchtliche Zusammenballungen; nur die Körner im Ruhestadium weisen in dieser Hinsicht fast keine bemerkbaren Änderungen auf. Die Spindel schrumpft zusammen und wird entweder gar nicht oder nur sehr undeutlich sichtbar (Fig. 12).

Diese Zusammenballungen des Chromatins bei derartig kurzer Einwirkung der hypertonischen Lösung sind aber nicht dauernde, sondern nur vorübergehende Änderungen und wahrscheinlich verursacht durch den Unterschied zwischen dem osmotischen Druck innerhalb und außerhalb der Zelle.

Die Mehrzahl derjenigen Präparate, welche 5 Minuten nach Übertragung der Eier in frisches Meerwasser fixiert wurden, bietet ganz andre Bilder als die noch während ihres Verweilens in der hypertonischen Lösung fixierten Eier.

Das Plasma nimmt wieder die normale körnige Struktur an, die inselförmigen Zusammenballungen verlieren sich und die Strahlung tritt schärfer hervor, wenn zwar die Spindel auch dann noch nicht scharf genug, sondern wie verschwommen erscheint.

Der Kern, oder vielmehr die Chromatinsubstanz, zerfällt wieder in einzelne Chromatinklümpchen, manchmal sogar in vollständig regelrechte Chromosomen. Doch nicht alle Eier kehren zur Norm zurück, ein Teil bleibt unverändert und ihr Kern einheitlich und kompakt, wie in der hypertonischen Lösung.

Werden sie länger, und zwar 20 oder mehr Minuten, in dem Meerwasser belassen, so erleiden die Eier Änderungen andrer Art. Diese Änderungen sind schon von bleibenderer Beschaffenheit und betreffen hauptsächlich die Kernsubstanz.

Die am Plasma auftretenden Änderungen bestehen vorwiegend in der Bildung von Cytastern. Bei der Mehrzahl der ungeteilten Eier und nur bei vereinzelten geteilten Eiern lassen sich nämlich beträchtliche

Mengen von Cytastern, die hauptsächlich an der Peripherie verstreut sind, beobachten. Manchmal treten auch um den Kern selbst herum mehrere Centren auf. Die an der Peripherie gelegenen Cytaster unterscheiden sich von den um die Kerne gelagerten in keiner Weise hinsichtlich ihrer Struktur. Sowohl die einen wie die andern besitzen sich ziemlich deutlich färbende Centrosomen.

Die Plasmateilung ist gehemmt. Die ersten Teilungen beginnen erst 45 Min. nach Überführung der Eier in Meerwasser einzutreten, aber nur in denjenigen, die bereits im Zweiblastomerenstadium begriffen sind und überdies keine Cytaster im Plasma aufweisen. Nach 60 Min. befindet sich ein Teil der Eier im Vier- bis Achtblastomerenstadium, nach 70 und 80 Min. erreichen einige bereits die Zahl von 16 Blastomeren. Nach 17 Std. sieht man eine geringe Anzahl von Blastulae und Morulae sich auf dem Boden des Gefäßes bewegen, die Mehrzahl der Eier ist aber bereits der Cytolyse anheimgefallen. Der Verlauf der Teilung war ziemlich unregelmäßig.

Zwischen den in der IV. Serie erhaltenen und den Resultaten der vorhergehenden Versuchsreihen besteht aber ein prinzipieller Unterschied. Und zwar besteht derselbe einerseits in den Änderungen der Kernsubstanzstruktur überhaupt, andrerseits aber in den Änderungen am Plasma, die in einer ausgesprochenen Verzögerung des Tempos bestehen, in welchem sich die Umsetzung der Plasmasubstanz in Kernsubstanz vollzieht.

Am augenfälligsten ist dieser Unterschied bei ungeteilten Eiern. In der ersten und zweiten Serie weicht das Tempo des Kernsubstanzzuwachses entweder gar nicht oder nur ganz unbeträchtlich von dem Tempo desselben Prozesses bei normal sich teilenden Eiern ab, was durch die Gegenwart einer entsprechenden Anzahl im Ruhestadium befindlicher Kerne oder Kernteilungsfiguren im ungeteilten Plasma zum Ausdruck gelangte.

Die dritte Versuchsreihe bildet gewissermaßen die Mitteletappe, denn es treten in ihr dieselben Veränderungen der Kernsubstanz auf, wie in der vierten Serie, während die Kernteilung sowie die Kernsubstanzzunahme — wenigstens zu der Zeit, wo ich die Eier beobachtet habe — bereits eine ausgesprochene Verzögerung aufwiesen.

Eine viel größere Verlangsamung, ja fast einen Stillstand dieses Prozesses kann man bei den Eiern der vierten Serie beobachten, wo bei der Mehrzahl der ungeteilten Eier 80 Min. nach ihrer Überführung in Meerwasser höchstens je zwei Kerne anzutreffen sind. Dasselbe kann man auch an den zwei bzw. vier Blastomeren beobachten, die die Fähigkeit zur weiteren Teilung verloren haben. Es geht somit bei diesen Eiern

mit dem Verlust der Fähigkeit des Plasmas zur Teilung auch der Verlust seiner Fähigkeit, sich in Kernsubstanz umzubilden, und somit der Verlust der weiteren Entwicklungsmöglichkeit Hand in Hand.

Ausgesprochene Änderungen erleidet in dieser Serie auch die karyokinetische Figur und die Kernsubstanz überhaupt. Diese Änderungen lassen sich in zwei Gruppen einteilen, die zwar durch Übergangsstufen miteinander in Verbindung stehen, die aber beide gewisse charakteristische Merkmale aufweisen, die sie prägnant voneinander unterscheiden lassen.

Die Änderungen der ersten Art treten schon während des Verweilens der Eier in der hypertonischen Lösung auf, die andern dagegen erst mehrere Minuten nach ihrer Überführung in Meerwasser. Es scheint mir, daß die Mehrzahl der Änderungen der ersten Art der Einwirkung der hypertonischen Lösung auf Eier, deren Kerne sich in der Mitose befanden, zuzuschreiben ist. Die zweite Art hingegen trat wahrscheinlich bei denjenigen Eiern auf, welche der Einwirkung der hypertonischen Lösung entweder im Ruhestadium der Kerne oder in der Prophase ausgesetzt waren, wo sie noch die Kernmembran besaßen.

Wasielewski (44) bemerkt gleichfalls, daß die amitotischen Figuren erst einige Zeit nach der Überführung der Pflanzen in normale Daseinsbedingungen aufgetreten sind.

Das charakteristische Merkmal der ersten Art der Kernveränderungen ist die Verschmelzung der Chromatinsubstanz.

Wenn man die beigefügten Zeichnungen betrachtet, so kann man sich ein anschauliches Bild von der großen Menge der verschiedensten Stufen derartiger Änderungen machen — und zwar bei Fig. 13 und 21 beginnend, wo die ganze achromatische Figur sehr gut erhalten ist, während im Chromatin noch kaum der Anfang dieses Prozesses angedeutet ist, bis zu solchen Bildern, wie in Fig. 20, wo die ganze Chromatin- und achromatische Substanz eine einzige kompakte Masse bilden. Zwischen diesen beiden extremen Stadien sieht man eine ganze Reihe von Übergangsformen.

Gleichzeitig mit den Veränderungen des Chromatins treten hier auch Änderungen in den andern Teilen der karyokinetischen Figur auf, d. h. in der Spindel. Auch bei diesen Änderungen lassen sich mehrere Formen unterscheiden. Jedoch läßt sich zwischen den Änderungen am Chromatin und denjenigen an der achromatischen Substanz keine ausdrückliche zeitliche Koordination feststellen. Mitunter ist die Spindel noch ganz regulär, während das Chromatin eine ausgesprochen kompakte Masse darstellt (Fig. 19). Besonders deutlich tritt dieser Mangel an Koordination im Muttersternstadium und in den Anfängen der Metaphase zutage; am

Schluß der Metaphase dagegen zeigen die Änderungen am Chromatin und der achromatischen Substanz bereits eine größere Koordination in ihrem Fortschreiten.

Die Fig. 15, 19, 21 veranschaulichen verschiedene Stufen der Veränderungen an der Chromatinsubstanz, und zwar in Stadien, die man als Mutterstern oder als den Anfang der Metaphase ansprechen kann. Die Spindel ist fast überall deutlich sichtbar und das Chromatin stellt sich entweder in der Gestalt von ziemlich langen aber dünnen Stäbchen (Fig. 21), oder als mehrere kleinere Klümpchen von schwammiger Struktur (Fig. 15), oder endlich als eine einheitliche kompakte Chromatinmasse dar (Fig. 19); überall ordnet es sich in der äquatorialen Gegend der Spindel an.

Die Fig. 13, 14, 18, 20, 22—25 stellen die Änderungen in jenen Stadien dar, die man als das Ende der Metaphase betrachten könnte. Die Spindel ist bei einigen Präparaten fast völlig unsichtbar (Fig. 20, 22, 24, 25), bei andern dagegen (wie in Fig. 13, 14, 18, 23, 26) tritt sie, wenn auch schwach entwickelt, dennoch in Erscheinung.

Auch das Chromatin zeigt verschiedene Bilder; es ist nämlich entweder ganz (Fig. 19, 20) oder nur teilweise (Fig. 15, 21) verschmolzen, oder aber es tritt in der Gestalt von mehr oder minder langen und starken Fäden auf (Fig. 14, 18). Ein andres Aussehen hat das Chromatin in den Bildern, die durch Fig. 13, 22, 23, 24, 25 veranschaulicht werden. Hier tritt es nämlich entweder als feinkörnige, ziemlich lose und unregelmäßig an der Spindel verstreute Masse auf (Fig. 13), oder es ist mehr kompakt und von netz- oder schwammförmiger Struktur, wobei sie entweder die Form einer ovalen, etwas abgeplatteten Figur oder diejenige einer Hantel von verschiedener Dicke und Länge annimmt (Fig. 22—26).

Die Fig. 16 und 17 stellen zwei verschiedene Stufen von Änderungen in der Anaphase dar. Man sieht noch Reste der Spindel und das Chromatin mehr oder weniger kompakt.

Fig. 27 zeigt die Änderung der karyokinetischen Figur mit einem Centrum. Die Strahlung tritt deutlich hervor, und auf ihrem Hintergrunde sieht man ein Netz von verschmolzenem Chromatin mit hier und da auftretenden dickeren Knoten.

Von besonderem Interesse ist Fig. 28 aus dem Grunde, weil hier in ein und demselben Ei nicht alle Chromosomen Änderungen in demselben Grade erlitten haben: während nämlich die eine Spindel dieser tripolaren Figur eine regelrechte Metaphase zeigt, erscheinen die Chromosomen der beiden andern Spindeln als ungleich große, zu beiden Seiten des einen Poles unregelmäßig verstreute Klümpchen. Fig. 46 zeigt das Bild von

ganz unbedeutenden Änderungen dieser Art. Die fast unveränderten Chromosomen teilen sich in der Richtung ihrer Längsachse. Bei einigen ist diese Teilung noch nicht vollständig, die beiden Teile sind noch an einem Ende miteinander verbunden, wodurch sie V-ähnliche Figuren bilden. Die Enden einiger Chromosomen besitzen knaufförmige Verdickungen. Die Chromosomen selbst liegen zerstreut auf dem Territorium zwischen den beiden Centren. Die Spindel tritt nur undeutlich hervor.

Bezüglich der Fig. 46, 13, 14, 18, 20—26 muß noch eine deutlich hervortretende Erscheinung hervorgehoben werden, die auch bereits in der ersten und zweiten Versuchsreihe beobachtet wurde, und die in dem ungleichzeitigen Wandern des Chromatins in der Metaphase besteht.

Die Centrosomen zeigen gleichfalls gewisse Abweichungen von der Norm; sie büßen ihre Struktur ein, und oft sieht man in ihnen mehrere dunkle Körnchen, Centriolen nicht unähnlich (Fig. 12, 14, 18). In der Struktur der Strahlungen lassen sich keine Änderungen wahrnehmen.

Nach 40 Minuten langem Verweilen der Eier in Meerwasser treten neben den oben geschilderten bei sehr vielen Eiern Änderungen ganz andrer Art ein.

Die Chromatinsubstanz schmilzt nicht zu größeren Massen zusammen, sondern ist in Gestalt einer sehr großen Menge winziger Körnchen auf dem ganzen Territorium zwischen den beiden Centrosomen verstreut, an der Stelle, welche bei normaler Mitose die Spindel einnimmt. Diese ganze Masse hebt sich von dem sie umgebenden Plasma ziemlich scharf hervor und macht den Eindruck eines vollständigen Kernes. Sie stellt sich als ein von der Umgebung ziemlich deutlich abgegrenztes Bläschen, mitunter sogar wie mit einer Kernmembran umhüllt dar.

Ein derartiges Bläschen teilt sich entweder als ein einziges Ganzes, oder es zerfällt in eine Anzahl von Bläschen verschiedener Größe, Kariomeren, die sich mitunter einschnüren und so zu Tochterkernen werden.

Zwischen der ersten und der zweiten Art von Änderungen bestehen verschiedene Übergangsstadien. Die Fig. 22—26 veranschaulichen Übergänge zwischen der ersten und der zweiten Art. Die Kernsubstanz tritt hier in Gestalt einer ziemlich dichten, netzartigen Masse auf, die sich zu strecken und einzuschnüren beginnt, darauf die Gestalt einer Hantel einnimmt und schließlich in zwei Tochterkerne zerfällt. Die Spindeln sind nicht in allen diesen Figuren gleich scharf ausgeprägt. Dort, wo das Chromatin ein breiteres Gebiet einnimmt, ist die Spindel kaum zu sehen (Fig. 24, 25, 26), wo es sich hingegen zu einem schmäleren Bande anordnet, ist wenigstens ein Teil der Spindel deutlich sichtbar (Fig. 22, 23). Deutliche Centrosomen mit Strahlungen eilen öfters der Kernsubstanz-

teilung voraus (Fig. 22); während die erste Teilung des Chromatins noch nicht zu Ende ist, schicken sich die Centrosomen bereits zur zweiten Teilung an.

Ein typisches Bild des Verlaufs der Kernteilung mit Änderungen der zweiten Art bieten uns die Fig. 29—36.

Das Kernbläschen, welches die Struktur eines normalen Kernes eingebüßt hat, wird von winzigen Chromatinkörnchen, die so ziemlich regelmäßig über sein ganzes Gebiet verstreut sind, ausgefüllt (Fig. 29). Dieses Bläschen beginnt sich zu strecken und gleichzeitig in der Mitte einzuschnüren (Fig. 30). Die Chromatinkörnchen rücken nach den Polen zu, indem sie in der Mitte ein spindelartiges Gebilde, eine Fadensträhne, die die beiden verdickten Enden verbindet, hervortreten lassen (Fig. 30).

Der Kern besitzt sogar in dem Stadium, wie es Fig. 29 festhält, keine normale Struktur mehr, man vermißt bei ihm das Lininnetz mit den Chromatinkörnern, vielmehr sind diese Körner unregelmäßig und ohne irgendeine ausgesprochene Struktur im Raume verstreut. Denselben Zustand der Kernstruktur zeigt Fig. 30, wo sich die Chromatinkörnchen an den Polen zusammengedrängt und in der Mitte die Chromatinsubstanz von faseriger Struktur und von einer angenäherten Form einer veränderten Spindel freigelegt haben. Die Fig. 31—36 zeigen die weiteren Stadien der Änderungen dieser Art. In dem Maße, wie sich die Körnchen zusammendrängen und an den Polen anordnen, wo sie Tochterkerne bilden, beginnt auch die Fadensträhne dichter und immer enger zu werden, bis sie schließlich vollständig reißt. Die an den Polen angesammelte Kernsubstanz dagegen umhüllt sich mit einer Membran und nimmt die Gestalt eines ruhenden Kernes an. Solch ein Bläschen besitzt eine ziemlich deutliche Abgrenzung von dem es umgebenden Plasma (Fig. 29), doch diese Scheidewand ist noch nicht die gewöhnliche Kernmembran. Eine derartige Abgrenzung der beiden Substanzen finden wir auch an andern Präparaten, doch ist sie mitunter nur so schwach angedeutet, daß von irgendeiner einheitlichen Membran gar keine Rede sein kann. Besonders macht sich der Mangel einer Membran in der Gegend, wo die Tochterkerne sich mit dem Rest der Spindel vereinigen, bemerkbar (Fig. 32, 35).

Die Begrenzung der Kernsubstanz durch eine Membran tritt erst später ein, nachdem sich die Tochterkerne bereits getrennt haben (Fig. 34, 36).

Eine ganz analoge Kernstruktur stellt Fig. 47 dar. Das von der Umgebung deutlich abgegrenzte Kernbläschen wird von winzigen Chromatinkörnchen ausgefüllt, hat jedoch infolge der Gegenwart von drei Centren die Gestalt eines Dreiecks. Im Kern fehlt gleichfalls das Lininnetz, und

die Chromatinkörnchen sind unregelmäßig über die ganze Fläche verstreut. Die weiteren Stadien des Teilungsprozesses eines solchen Kernes mit drei Centren zeigt Fig. 44. Innerhalb des helleren Raumes, der vom Plasma wie durch eine äußerst dünne Membran abgegrenzt erscheint, liegt die dreipolige Spindel, auf welcher die winzigen Chromatinkörnchen so dicht verstreut sind, daß sie die Spindel beinahe verdecken. Weitere Stadien des Teilungsprozesses der dreipoligen Figur konnte ich nicht beobachten, doch die eben beschriebenen Anfangsstadien sind den bei der zweipoligen Figur geschilderten Änderungen völlig analog (Fig. 29, 30). Diese Art der Kernteilung tritt häufig allein ohne Plasmateilung auf, mitunter aber verlaufen diese beiden Prozesse gleichzeitig nebeneinander (Fig. 32, 35, 36). In allen diesen Figuren befinden sich die Centrosomen an den Polen, oft aber eilen sie der Kernteilung voraus, so daß der Kern noch kaum seine erste Teilung beendet hat, während sich die Centrosomen bereits zur zweiten Teilung anzuschicken scheinen.

Eine gewisse Abart dieser Kernteilungsart vertritt die dritte Gruppe von Eiern. Die Kernbläschen (Fig. 37 u. 48), die durch ihre Struktur an die soeben beschriebenen erinnern, beginnen sich einzuschnüren, doch gleichzeitig mit diesem Prozesse zerfallen sie in mehrere, oft in eine größere Anzahl von Bläschen, Karyomeren. Einige der letzteren scheinen sich nochmals einschnüren zu wollen, während die andern nach den Polen zu wandern (Fig. 39, 40, 41—43, 49, 50).

Eine normale Spindel konnte man bei dieser Teilung nirgends beobachten. Die sich teilenden Karyomeren oder Tochterkernbläschen sind jedoch häufig durch schmale Bändchen oder Fäden miteinander verbunden (Fig. 40, 41, 48), die an Reste einer bei der vorhergehenden Gruppe von Eiern beschriebenen veränderten achromatischen Spindel erinnern (Fig. 29—36).

Die Karyomeren sammeln sich an den einzelnen Polen und verschmelzen wiederum zu Tochterkernen. Die Plasmateilung findet sehr oft gleichzeitig mit der Kernteilung statt (Fig. 41, 42, 49, 50).

Ein charakteristisches Merkmal dieser Teilungsfiguren ist die Ungleichzeitigkeit der Umlagerung der Kernsubstanz. Dieses Merkmal ist so auffallend, daß hier die gebräuchliche Einteilung in Pro- und Metaphase unstatthaft erscheint; denn während die einen Karyomeren noch in der Einschnürung begriffen sind, haben die andern bereits das Aussehen von Chromosomenbläschen in der Anaphase.

Man könnte diesen Teilungsmodus auch damit zu erklären suchen, daß die Chromosomen im Stadium des Muttersterns oder gleich nach ihrer Teilung anschwellen und in diesem Zustande ungleichzeitig nach

den Polen wandern. Gegen die Entstehung normaler Chromosomen in diesen Figuren würde die ganz veränderte Teilungsfigur, d. i. das Fehlen der Spindel und einer Abgrenzung der Chromatin- von der achromatischen Substanz sprechen (Fig. 37, 48). Auch an den vielen Präparaten von Eiern, die 60—70 Min. nach ihrer Übertragung in normales Seewasser fixiert worden sind, bei denen man doch die verschiedensten Entwicklungsstadien antreffen kann, ist es mir gleichfalls nicht gelungen, derartigen Figuren zu begegnen, die für die obige Erklärung sprechen würden.

Auch in dieser Gruppe stellen die Centrosomen die Pole vor und scheinen die Kernteilung selbst zu leiten. Diese Teilung verläuft oft gleichzeitig mit der Plasmateilung und ist der am häufigsten auftretende Teilungstypus in dieser Versuchsserie. Man trifft ihn nicht nur in den Anfangsstadien, sondern auch in den Stadien von 8—16 Blastomeren an.

Als eine Übergangsform zwischen der ersten Art der Änderungen am Kern und den soeben beschriebenen Änderungen der Teilungsfigur kann man Fig. 38 betrachten. Zwischen den deutlich hervortretenden Centrosomen ist die Spindel fast gar nicht zu sehen, dafür nimmt ihre Stelle eine feinkörnige Masse ein; ungefähr in dem äquatorialen Teile der letzteren sieht man Chromatinklümpchen, die sich in einer an den amitotischen Teilungstypus erinnernden Art teilen, d. h. durch Einschnürung und Bildung hantelartiger Figuren. Diese Figur entspräche etwa dem Anfang der Metaphase. Derartigen Bildern begegnen wir jedoch an Präparaten, die 20—30 Min. nach Übertragung der Eier aus der hypertonischen Lösung in normales Meerwasser fixiert worden sind.

An Präparaten, die 80 Min. nach Übertragung der Eier in Seewasser fixiert worden sind, sieht man, daß in der Struktur der Kernsubstanz eine Regulation stattfindet, die sich darin äußert, daß in den sich teilenden Kernen nunmehr normale Spindeln zutage treten, während die Chromatinsubstanz sich in immer mehr der Norm sich nähernde kleine Segmente teilt, die mitunter schon die Gestalt völlig normaler Chromosomen annehmen.

Bereits in Fig. 43 sieht man an einer der Blastomeren eine karyokinetische Figur, die sich der normalen nähert. Zwischen den zwei Centrosomen sieht man bereits deutlich die Spindel hervortreten und auf derselben eine ziemlich beträchtliche Menge von Chromatinkörnchen, die in der Wanderung nach den beiden Polen begriffen sind, verstreut.

In den weiteren Figuren (45) sieht man noch andre Regulationsformen, wie beispielsweise in jener, wo ein Teil des Chromatins bereits in normale Chromosomen zerfallen ist, während der Rest noch Karyomeren bildet. Jedoch tritt hier überall noch deutlich die Ungleichzeitigkeit der Wande-

rung des Chromatins hervor. An der Hand dieser Präparate gelangen wir auch zu der Ansehauung, daß die Regulationsvorgänge in der Kernsubstanzstruktur nicht in allen Blastomeren in gleicher Zeit vor sich gehen; denn während die einen eine völlig normale karyokinetische Figur aufweisen, bemerken wir bei andern noch ganz beträchtliche Veränderungen.

Nach 17stündigem Verweilen der Eier in Meerwasser konnte man eine geringe Anzahl von Blastulae und Morulae am Boden des Gefäßes herumschwimmen sehen. Der vorwiegende Teil der Eier befand sich aber bereits in der Cytolyse.

Von den Blastulae war nur ein geringer Teil normal entwickelt, in der Mehrzahl waren es Stereoblastulae. Sie besaßen im Blastocöl eine gewisse Anzahl von Zellen, die entweder lose gelagert oder aber mit den Blastulawänden verbunden waren.

Die Morulae bestanden oft aus Zellen von verschiedener Form und Größe, die je nach der ihnen zukommenden Plasmamenge mehr oder weniger Kernsubstanz besaßen, und zwar entweder in der Gestalt mehrerer kleineren Kerne oder einer geringeren Anzahl größerer Kernmassen. Derartige Bilder wiesen darauf hin, daß die Teilung auf ziemlich unregelmäßigem Wege vor sich gegangen sein muß, und daß sich nicht alle Blastomeren in demselben Tempo geteilt haben.

Unter den Zellen der Morulae und Blastulae begegnet man Kernteilungsfiguren, aus denen zu ersehen ist, daß die Chromosomen von ungleicher Größe sind; auch die Zahl der Chromosomen ist in den einzelnen Kernen nicht die gleiche. Besonders kraß tritt dieser Unterschied zwischen den großen und den kleinen Kernen hervor. Die großen Kerne besitzen oft eine bedeutend größere Anzahl von Chromosomen, als die kleinen, mitunter aber ist ihre Chromosomenzahl fast dieselbe wie in den kleinen, dafür aber sind die Chromosomen beträchtlich größer.

Ähnliche Fälle beschreibt Godlewski (5) bezüglich der Echinideneier und hebt dabei hervor, daß derartige Typen von Mitose mit der Theorie der Chromosomenindividualität nicht besonders gut vereinbar sind.

Von den in Serie 3 und 4 beschriebenen Änderungen verdienen ein besonderes Interesse die Änderungen im Verlauf der Kernteilungsfigur.

Ähnliche Änderungen wie die unsrigen der ersten Art (Fig. 12—27), die sich in der Verschmelzung der Chromatinsubstanz äußern, sind schon des öfteren von verschiedenen Autoren beschrieben und auf verschiedenen Wegen erhalten worden.

O. Hertwig (12) hat beobachtet, daß bei befruchteten Echinideneiern nach längerem Verweilen derselben in niedriger Temperatur durchgreifende Änderungen in der Struktur des Kernchromatins auftreten; letzteres erscheint nämlich entweder als eine einzige verschmolzene Masse mit Ausläufern, die an Pseudopodien erinnern, oder in Gestalt mehrerer unförmiger Klümpchen. Ähnliche Änderungen sind berichtet worden von Kostanecki (19) bei *Mysostoma* unter der Einwirkung von konzentriertem Meerwasser, sowie von Bataillon (1) bei *Petromyzon* und *Rana fusca* unter dem Einfluß von hypertonischen Lösungen verschiedener Salze und Rohrzucker.

Bei denjenigen Eiern, welche geringere Störungen erlitten haben, und bei denen die Änderungen unbeträchtlich sind, tritt wahrscheinlich nach einiger Zeit eine Regulation ein; diejenigen dagegen, deren Chromatin allzu große Änderungen erlitten hat, sind nicht mehr fähig, diese Störungen zu regulieren; darum begegnen wir in solchen Eiern in den meisten Fällen neben der Hemmung der Plasmateilung auch einen Stillstand in der Kernsubstanzzunahme. Das Chromatin stellt alsdann eine kompakte Masse dar, und im Plasma sieht man weder Centrosomen noch Strahlungen. Es sind dies ausgesprochen pathologische Bilder.

Ein größeres Interesse verdienen die der zweiten Art angehörigen Änderungen (Fig. 29—43, 48—50). Auf den ersten Augenschein erinnern sie an die amitotische Teilung, bei näherer Betrachtung kommt man jedoch zu der Überzeugung, daß man es vielmehr mit einer mitotischen, wenn auch veränderten Teilung zu tun hat.

Die Analyse des karyokinetischen Prozesses, sowie die Bestimmung der Anteilnahme der einzelnen Kernsubstanzen an demselben sind von Roux (65, 66) bereits in den Jahren 1883 und 1885 durchgeführt worden. Als das charakteristischste Merkmal der Karyokinese betrachtet besagter Autor die sogenannte qualitative Halbierung, die darauf beruht, daß die Chromatinsubstanz sich in einzelne Segmente — Chromosomen — zerkleinert (Materialzerkleinerung), die eine Teilung in zwei gleiche Teile — Tochterchromosomen — erleiden (molekulare Teilung) und nach den Polen zu verschoben werden, wo sie einen Bestandteil der Tochterkerne bilden.

Auf Grund dieser Charakteristik der karyokinetischen Teilung sagt Godlewski (45, 119 S.): »Mögen auch die achromatischen Bestandteile sich ähnlich wie bei der Karyokinese verhalten, wenn nur keine Zerkleinerung der chromatischen Substanz in einzelne Segmente, Chromosomen, stattfindet und nicht die einzelnen Chromosomen, sondern die Totalität der chromatischen Substanz halbiert, so ist in diesem Falle

gleichgültig, ob wir diesen Vorgang als Amitose, oder als veränderte Karyokinese bezeichnen.«

Wenn wir den Standpunkt Roux' einnehmen und mit Godlewski darin übereinstimmen, daß es gleichgültig ist, welche Bezeichnung wir der Teilungsfigur beilegen, in welcher das Chromatin den für die Mitose maßgebenden Änderungen nicht unterliegt, so scheint mir doch eine eingehendere Analyse dieser Art künstlich hervorgerufener Änderungen mit Rücksicht auf die Feststellung des Verhältnisses zwischen der mitotischen Teilung und der Amitose von Bedeutung zu sein.

Die bereits ziemlich umfangreiche Literatur über diesen Gegenstand hat bisher eine ausreichende und entschiedene Antwort auf diese Frage nicht ergeben; doch dank den Beobachtungen von Child (3, 4), Maximoff (26), Patterson (35) und Nowikoff (70) an Metazoen, sowie experimentellen Arbeiten, in denen die Autoren der Amitose ähnliche Figuren erhielten, beginnt sich die Überzeugung von der Gleichwertigkeit der amitotischen Teilung und der Mitose immer mehr einzubürgern.

Godlewski (45) gelangt auf Grund der ganzen bisherigen Literatur über diesen Gegenstand zu dem Schluß: »daß aus der bisherigen Literatur sich keine einzige Angabe anführen läßt, durch welche ganz positiv bewiesen würde, daß die Amitose der Karyokinese nicht gleichwertig sein könnte«.

Um diese Frage definitiv entscheiden zu können, sind aber außer Beobachtungen noch eine Reihe von Versuchen nötig, um den Beweis zu erbringen, daß diese beiden Formen eine in die andre übergehen können. Dabei muß man jedoch berücksichtigen, worauf auch Boveri (2) aufmerksam macht, daß es noch nicht genügt, die Amitose auf künstlichem Wege zu erhalten, sondern daß man sich noch überzeugen muß, ob diese Amitose wieder zurück in normale Mitose übergehen kann.

Unter den Angaben der bisherigen Literatur finden wir, daß es nur Nathansohn (31) und Gurwitsch (6) gelungen ist, mit künstlichen Mitteln eine amitotische Teilung zu erhalten, daß aber nur Nathansohn imstande war festzustellen, daß eine solche künstlich erhaltene Amitose in normale Mitose übergehen läßt.

Die Arbeiten von Haecker (7, 8), Schiller (60), Herbst (11), Gerasimoff (51), Wasielewski (44) und Nemec (61), welche der Amitose ähnliche Figuren erhielten, lassen nur mit größerer oder geringerer Wahrscheinlichkeit annehmen, daß die von ihnen erzielten Kernteilungsfiguren sich in normale Mitosen wieder zurückführen lassen.

Auch die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit gestatten in dieser Hinsicht keine kategorische Beantwortung der Frage. Wenn wir aber

einerseits die Tatsache in Betracht ziehen, daß in einer ganzen Reihe von Präparaten der sich teilenden Eier in der Zeit bis zu 80 Min. normal ausgebildete Mitosen vollständig fehlen, andrerseits aber die Anwesenheit einer ganzen Reihe von Übergangsformen, und zwar von den der Amitose sich nähernden bis zu fast völlig normalen mitotischen Figuren berücksichtigen, so sind wir meines Erachtens berechtigt, mit großer Wahrscheinlichkeit anzunehmen, daß in der Tat diese beiden Arten der Teilungsfiguren unter gewissen Bedingungen eine in die andre und umgekehrt übergehen können.

Eine Zwischenstellung in gewisser Hinsicht nimmt diejenige Gruppe von Kernänderungen der zweiten Art ein (Fig. 37—43, 48—50), in denen wir neben Bildern die an amitotische Teilung erinnern, gleichsam einen Zerfall des Kernes in eine Anzahl kleinerer Kerne — Karyomeren — antreffen, die sich dann einzeln gleichfalls in obiger Weise teilen. Diese Bilder erinnern an die bereits von Montgomery (48), Spuler (49), Haecker (8) und an die neuerlich von Vejdovsky (47) und Reuter (62) geschilderten.

Schiller (60) spricht bei Beurteilung der von ihm erhaltenen Bilder der Kernänderungen die Ansicht aus: »daß durch die Wirkung verschiedener Reize der Kernteilungstypus der Furchungs- und Reifungsperiode im ganzen auf einen primitiven Typus zurückschlägt.« Wasielewski (44) hält dagegen die Entstehung solcher künstlich erhaltenen, der Amitose ähnlichen Formen für eine Art von Atavismus, hervorgerufen durch die künstlichen Daseinsbedingungen, d. h. er ist der Ansicht, daß unter dem Einfluß dieser Bedingungen zuerst die jüngsten Funktionen zum Schwinden kommen, die älteren Merkmale dagegen erhalten bleiben.

Ohne auf die Frage einzugehen, ob die von den beiden obigen Autoren ausgesprochenen Vermutungen richtig sind oder nicht, muß darauf aufmerksam gemacht werden, daß Änderungen dieser Art — daß nämlich die Kernfigur an die Figur der amitotischen Teilung erinnert — in verschiedenen, sowohl tierischen wie auch pflanzlichen Zellen anzutreffen sind, und daß verschiedene äußere Faktoren zu ähnlichen Ergebnissen führen.

Es ist wohl kaum ein Zufall nur, daß in allen diesen so verschiedenartigen Verhältnissen immer die gleichen Änderungen eintreten, sondern es muß hier ein tieferer Grund obwalten, der mit der Struktur oder irgendwelchen andern Eigentümlichkeiten der Kernsubstanzen, oder aber auch mit dem Mechanismus der Kernteilung im Zusammenhange steht.

Bei einer näheren Betrachtung meiner Präparate läßt sich feststellen, daß die ersten leisesten Änderungen, die die Kernsubstanz erleidet, auf gewissen Störungen in der Wanderung des Chromatins bei der Teilung beruhen. Ohne Rücksicht darauf, ob das Chromatin in Gestalt von regelrechten Chromosomen oder winzigen Körnchen oder sogar als kompakte Masse auftritt, überall sieht man in der Metaphase diese Änderung. Worauf diese Änderungen beruhen, wovon sie abhängen, darauf läßt sich schwer eine Antwort geben. Da fast regelmäßig mit diesen Änderungen gleichzeitig auch die Spindel ihre regelrechte deutliche Struktur einbüßt, so ist es sehr leicht möglich, daß diese beiden Erscheinungen im gewissen Zusammenhange mit einander stehen.

Die erste Art der Kernänderungen (Fig. 12—27) weist neben dem oben besprochenen noch ein andres, sehr charakteristisches und nur dieser allein eigentümliches Merkmal auf, d. h. die Verschmelzung der Chromatinsubstanz. Wenn wir den Umstand berücksichtigen, daß die Kerne, die diese Änderungen erlitten haben, sich in den verschiedenen Phasen der Mitose befunden haben, so können uns diese beiden, gleichzeitig mit den Änderungen in der Kernstruktur auftretenden Merkmale sehr wohl viele Bilder der Änderungen der ersten Art erklären.

Die Änderungen der zweiten Art (Fig. 29—50) entstehen in andern Bedingungen; höchstwahrscheinlich kommen sie nämlich in solchen Kernen zustande, die während des Verweilens der Eier in der hypertonischen Lösung sich im Ruhestadium befunden haben. Darum ist auch der Mechanismus ihrer Entstehung ein andrer.

Alle für die Kernfigur bei normaler Mitose charakteristischen Merkmale erscheinen hier gleichsam in ihrer Entwicklung aufgehalten und unfertig. Einerseits sehen wir, daß eine normale Spindel zur Ausbildung nicht gekommen ist und daß das Chromatin sich in einzelne Chromosomen nicht differenziert hat, andrerseits aber, daß der Kern seine durch die Gegenwart einer mehr oder minder deutlichen Kernmembran bedingte Totalität nicht eingebüßt hat. Überhaupt spielt sich der ganze Kernteilungsprozeß innerhalb des Kernes, d. h. intranuclear ab.

Die Fig. 29—37 könnte man in gewisser Hinsicht mit den von Kostanecki (18) bei *Mactra* erhaltenen Bildern vergleichen; auch er hat intranucleare Karyokinesen beobachtet, die sich darin äußerten, daß sich innerhalb des Kernes eine normale achromatische Spindel gebildet hat und das Chromatin in Gestalt von regelrechten Chromosomen aufgetreten ist.

Gewisse Merkmale der Entwicklungshemmung weisen auch diejenigen Figuren auf, in denen der Kern gleichsam in Karyomeren, die den einzelnen Chromosomen entsprechen, zerfällt; man vermißt hier nämlich die Aus-

bildung der achromatischen Spindel und die Differenzierung der Chromatinsubstanz in einzelne Chromosomen. Auch wenn wir annähmen, daß diese Karyomeren nichts andres als nur sehr schnell aufgequollene Tochterchromosomen sind, so muß uns doch überall die Abwesenheit der achromatischen Spindel auffallen.

So können wir also in allen angeführten Bildern der Kernänderungen mehr oder minder von der normalen Mitose abweichende und sich der Amitose nähernde Merkmale beobachten.

Die obige Darstellung der Abbildungen der Kernveränderungen ist nur die Probe einer Analyse der morphologischen Prozesse, die im Kern während seiner Teilung zutagetreten. Sie würde uns dennoch darauf hinweisen, daß es keinen prinzipiellen Unterschied zwischen den Prozessen, die in der Mitose und Amitose sich abspielen, gibt und daß diese Prozesse unter gewissen künstlichen Bedingungen in Metazoenzellen neben einander auftreten können.

Rich. Hertwig (14) gelangt auf Grund eines außerordentlich reichhaltigen vergleichenden Materials von Kernteilungsfiguren bei Protozoen zu dem Schluß: »Wir sind somit jetzt in der Lage, zwischen den einfachsten Formen der Kerndurchschnürung (direkte Kernteilung) und den kompliziertesten Vorgängen der Karyokinese alle Übergänge festzustellen und damit den sicheren Nachweis zu führen, daß zwischen direkter und indirekter Kernteilung keine Grenze existiert.«

Abgesehen von obiger Schlußfolgerung von dem innigen Zusammenhange der Prozesse der Mitose und Amitose muß noch auf eine gewisse Unabhängigkeit der Teilungsform und der Chromatinstruktur von der Teilungstendenz aufmerksam gemacht werden, die sich darin äußert, daß trotz der verschiedenartigsten Störungen in der Struktur sowohl der Chromatin- wie der achromatischen Substanz die Kernmasse als solche ständig zunimmt und sich in Tochterkerne teilt.

Diese Tatsache ist schon von Herbst (11) hervorgehoben worden, und auch Godlewski (45) ist in seiner oben zitierten Arbeit der Ansicht, daß »der typische Verlauf der Mitose und der Halbierung einzelner Chromosomen keine Vorbedingung der normalen Gestaltung des Embryos ist.«

Der Einfluß hypertonischer Lösungen auf befruchtete Eier in verschiedenen Frühstadien ihrer Entwicklung.

Das zweite Problem, dessen Lösung ich mir in vorliegender Arbeit zum Ziel gesetzt habe, war die Entscheidung der Frage, ob die Eier in verschiedenen Zeitpunkten nach der Aufnahme des Spermatozoons in

ein und derselben Weise auf die hypertonischen Lösungen reagieren, und ob ein Unterschied zwischen dem Verhalten von ungeteilten und im Zweiblastomerenstadium befindlichen Eiern besteht.

Was die letzte Frage anbelangt, so können wir sie auf Grund der vorhin geschilderten Versuche und in Übereinstimmung mit den von Loeb (59) erhaltenen Resultaten in bejahendem Sinne beantworten. Allen dreien der von mir angewandten Lösungen gegenüber zeigten sich die bereits geteilten Eier widerstandsfähiger, als die ungeteilten. Dies betrifft hauptsächlich das Protoplasma, welches unter dem Einfluß aller drei Lösungen sich in geteilten Eiern anders wie in ungeteilten verhalten hat. Morphologisch käme dieser Unterschied in dem Mangel bzw. der Anwesenheit von Cytastern in den einen bzw. den andern Eiern zum Ausdruck.

In noch stärkeren Lösungen wären die Unterschiede wahrscheinlich von noch tiefer greifender chemischer Natur als die bereits beobachteten; wenigstens deutet darauf eine in der letzten Versuchsreihe beobachtete Tatsache hin, wo der Zuwachs von Kernsubstanz in den ungeteilten Eiern zum Stillstand kam, was bei der Mehrzahl der in Furchung begriffenen Eier nicht der Fall war.

Um nun diese Frage bezüglich der ungeteilten Eier, die in verschiedenen Zeitpunkten nach dem Eindringen des Spermatozoons der Einwirkung der hypertonischen Lösung ausgesetzt wurden, zu entscheiden, habe ich drei Reihen von Versuchen durchgeführt.

I. Der erste Versuch bestand darin, daß die Eier in mehrere Portionen geteilt und alle Portionen gleichzeitig besamt wurden (siehe

Tabelle I.

Nr.	Besamung	In die hypert. Lösung	In Seewasser	Fixierung	Entwicklungsdauer
1	3 Std. 55 Min.	3 Std. 58 Min.	4 Std. 28 Min	5 Std. 20 Min.	1 Std. 25 Min.
2	3 » 55 »	4 » — »	4 » 35 »	5 » 25 »	1 » 30 »
3	3 » 55 »	4 » 05 »	4 » 40 »	5 » 25 »	1 » 30 »
4	3 » 55 »	4 » 10 »	4 » 45 »	5 » 25 »	1 » 30 »
5	3 » 55 »	4 » 15 »	4 » 50 »	5 » 25 »	1 » 30 »
6	3 » 55 »	4 » 05 »	4 » 45 »	7 » 30 »	3 » 35 »

Tab. I). Nach einiger Zeit, als alle Eier die Membran bereits ausgebildet hatten, wurde in allen Gefäßen, und zwar in jedem in einem andern Entwicklungsmoment, das Seewasser durch die hypertonische Lösung (50 ccm Seewasser + 8 ccm $2^1/_2$-n. NaCl-Lösung) ersetzt, in welcher die

Eier je 35 Min. verblieben; nach Ablauf derselben wurden sie wieder zurück in das Seewasser gebracht, worauf alle Portionen zu einer und derselben Zeit fixiert wurden. Nur ein Teil der Eier der sechsten Portion wurde im Seewasser länger belassen und erst 3 Std. 35 Min. nach der Besamung fixiert. Vor der Fixierung habe ich die Eier in vivo auf dem Uhrglase beobachtet, doch in allen fünf Portionen konnte ich weder Furchungserscheinungen, noch Änderungen am Kern, die von der Bildung einer Teilungsfigur zeugen würden, feststellen.

Nur die letzte Portion ist zur Furchung gekommen; der Furchungstypus war jedoch ziemlich unregelmäßig und erinnerte an denjenigen von unbefruchteten, künstlich zur Entwicklung angeregten Eiern.

Hinsichtlich der mikroskopischen Bilder zeigten die einzelnen Portionen gewisse Unterschiede:

In der ersten Gruppe von Eiern, welche 3 Min. nach der Besamung der Einwirkung der hypertonischen Lösung ausgesetzt wurden, lassen sich erheblichere Änderungen am Plasma nicht beobachten, hier und da sieht man nur inselförmige Anhäufungen von Hyaloplasma und von Strahlen umgebene kleinere Flecke. Das Spermatozoon ist nur in den seltensten Fällen mit dem Eikern verbunden, es stellt sich als ein kompakter Körper mit verhältnismäßig schwacher Strahlung dar. Das Centrosom ist mitunter ziemlich deutlich sichtbar und hat das Aussehen eines kompakten oder auch schwammartigen, von einer feinkörnigen Masse, von der nach allen Richtungen hin Strahlen ausgehen, umgebenen Körpers.

In der zweiten Gruppe von Eiern, d. h. in denjenigen, die 5 Min. nach der Besamung in die hypertonische Lösung gebracht wurden, sieht man schon viel mehr solcher, in denen das Spermatozoon den Eikern berührt oder mit demselben kopuliert. Die feinkörnige Masse umgibt dann den Kern wie eine Haube. Die Strahlung ist noch ziemlich schwach ausgebildet und auch im Plasma sind hier und da die Cytaster noch schwach entwickelt.

In Gruppe 3 und 4 kopuliert das Spermatozoon schon bei der Mehrzahl der Eier mit dem Eikern. Die Strahlung ist alsdann noch schwächer wie in den vorhergehenden Portionen, und der Kern ist oft nur von der feinkörnigen Masse ohne Strahlung umgeben. In einigen Eiern hat sich das Spermatozoon mit dem Eikern noch gar nicht verbunden. Es quillt dann zu ziemlich beträchtlicher Größe an, sein Chromatin verliert die zusammenhängende Struktur und zerfällt in einzelne Chromosomen.

In der fünften Gruppe beginnt das Chromatin des Spermatozoons

und des Eies im Kern zu zerfallen. Der Kern ist von einer mehr oder minder deutlichen Strahlung mit zwei Centrosomen an den Polen umgeben.

Auf Grund der geschilderten Änderungen gelangen wir zu dem Schluß, daß es für die befruchteten Eier, die in verschiedenen Zeitpunkten nach dem Eindringen des Spermatozoons der Einwirkung der hypertonischen Lösung ausgesetzt wurden, durchaus nicht gleichgültig ist, in welchem Moment diese Einwirkung einsetzt. Allen Gruppen von Eiern stand nämlich zu ihrer Entwicklung der gleiche Zeitraum zur Verfügung, und doch weisen sie hinsichtlich ihrer Entwicklungsphase augenfällige Unterschiede auf.

Die einzige morphologische Änderung, die im Plasma dieser Eier auftritt, besteht in der Bildung einer größeren Anzahl von Cytastern. Abgesehen davon, treten in den Eiern noch gewisse andre Änderungen zutage, welche zu einer Hemmung oder Verlangsamung der Wanderung des Spermakopfs führen. Diese Hemmung tritt in den Eiern nicht gleich zutage, sondern nach einigen Minuten. Davon zeugen die Präparate der Gruppe 3, d. h. derjenigen, wo die Eier 10 Min. nach der Besamung der Einwirkung der hypertonischen Lösung ausgesetzt wurden. In diesen Eiern hat nach ihrer Entnahme aus der hypertonischen Lösung fast überall schon die Kopulation der Kerne stattgefunden. Da aber in normalen Verhältnissen die Kernkopulation sich erst 15 Min. nach der Besamung vollzieht, so haben die Spermatozoon den restierenden Weg von 5 Min. schon während des Verweilens der Eier in der hypertonischen Lösung zurückgelegt.

Der zweite Unterschied, der sich aus den erhaltenen Resultaten ergibt, wäre die Tatsache, daß in der ersten Portion fast alle Spermatozoen noch als kompakte Chromatinklümpchen erscheinen; in der zweiten Gruppe ist ihre Struktur schon lockerer geworden und in der vierten, wo nur noch einzelne Spermatozoen unverbunden mit dem Eikern geblieben sind, stellen sie sich dar als ziemlich umfangreiche Bläschen mit deutlichem chromatischem Gerüst, das in einzelne Chromosomen zu zerfallen scheint.

Daraus können wir schließen, daß es auch für die Spermatozoen nicht gleichgültig zu sein scheint, in welchem Augenblick die Einwirkung der hypertonischen Lösung auf dieselben eingesetzt hat. Dies ergibt sich daraus, daß je früher nach dem Eindringen des Spermatozoons in das Ei die Einwirkung der Lösung begonnen hat, dasselbe desto länger verändert bleibt und sein Chromatin desto länger im Zustande einer kompakten Masse verharrt. Wo hingegen die hypertonische Lösung entweder

während der Kopulation oder unmittelbar vor derselben einzuwirken begonnen hat, dort sind die Änderungen in der Struktur des Spermatozoons fast unmerklich.

Die hauptsächlichsten Änderungen erleidet aber im vorliegenden Falle das Plasma. In morphologischer Hinsicht finden diese Änderungen ihren Ausdruck in der Bildung von Cytastern; andrerseits aber scheint mir auch die Tatsache, daß sich in diesen Eiern lange Zeit — und zwar noch 1 Std. 30 Min. — nach der Besamung die Kopulation der Spermaköpfe mit den Eikernen noch nicht vollzogen hat, daß also die Wanderung des Spermatozoons sistiert worden ist, gleichfalls dafür zu sprechen, daß das Plasma größere Änderungen erlitten hat.

Wenngleich es auch bisher noch nicht definitiv feststeht, von welchen Faktoren die Wanderung des Spermatozoons abhängt, d. h. ob dieser Prozeß vom Chemotropismus oder aber von gewissen Bewegungen im Plasma geleitet wird, so sprechen doch die Resultate der Untersuchungen von Krahelska (67), über die Befruchtung kernloser Plasmasegmente viel eher für die Richtigkeit der zweiten Erklärung.

Diese Änderungen im Plasma üben wahrscheinlich auch einen verzögernden Einfluß auf das Entwicklungstempo aus. Davon zeugt die letzte Portion der Eier, von denen nur ein ganz geringer Bruchteil 3 Std. 35 Min. nach der Besamung sich im Achtblastomerenstadium befindet.

Der Teilungstypus weicht ziemlich beträchtlich von der Norm ab. Oft tritt eine gleichzeitige Teilung in mehrere Zellen ein. An den karyokinetischen Figuren lassen sich größere Änderungen nicht beobachten, häufig treten aber pluripolare Figuren auf, auch läßt sich ein ungleichzeitiges Wandern der Chromosomen während der Metaphase feststellen, eine Erscheinung, die in allen Versuchen der ersten Gruppe bemerkt worden ist.

II. Die zweite Serie der Versuche wurde in der Weise durchgeführt, daß die Eier 7 Min. nach der Besamung, wo sie schon alle mit einer Membran versehen waren, der Einwirkung der hypertonischen Lösung (50 ccm Seewasser + 8 ccm $2^1/_2$-n. NaCl-Lösung) auf die Dauer von 35 Min. ausgesetzt wurden. Schon während des Verweilens der Eier in der hypertonischen Lösung, sowie nach ihrer Überführung in normales Seewasser wurden sie portionsweise in Abständen von mehreren Minuten fixiert. Die vorletzte Portion gelangte 2 Std. 37 Min., die letzte 15 Std. 30 Min. nach der Besamung zur Fixierung.

Die Änderungen, die in den direkt aus der hypertonischen Lösung heraus fixierten Eiern zutage treten, weisen darauf hin, daß das Plasma in dieser Lösung eine Schrumpfung erleidet und bis zu einem gewissen Grade

plasmolysiert wird. Die Strahlung verschwindet allmählich, so daß sie nach 25 Min. nicht mehr zu sehen ist. Die Wanderung des Spermatozoons kommt zum Stillstand und der Spermakopf selbst erscheint als ein kompaktes Chromatinklümpchen. Das Centrosom ist nur schwer zu entdecken. Der Kern unterliegt gleichfalls der Karyolyse und schrumpft ein, was aus seinem verringerten Volumen und seinen deutlich gezackten Rändern zu ersehen ist.

Schon 5 Min. nach Übertragung der Eier in normales Meerwasser nimmt das Plasma seine normale Struktur und Form wieder an, die Strahlung kommt ebenfalls wieder zum Vorschein und erreicht fast seine normale Größe. Im Plasma kann man hier und da die Bildung wolkenartiger Zusammenballungen von Hyaloplasma beobachten. Nach 15 bis 25 Min. beginnen diese Agglomerate immer dichter zu werden und die Gestalt von unregelmäßig sternförmigen Flecken anzunehmen; nach 35 und 55 Min. sehen wir schon ziemlich regelrecht ausgebildete Cytaster.

Aus diesen allmählich fortschreitenden Änderungen im Cytoplasma, die schließlich zur Bildung von Cytastern führen, können wir, meines Erachtens, gewisse Schlußfolgerungen bezüglich der Genese der Cytaster selbst ziehen und so die bereits von Morgan (28—30), Wilson (39) und Yatsu (17) ausgesprochenen Vermutungen bestätigen, daß eben diesen wolkenartigen Zusammenballungen des Hyaloplasmas die Cytaster ihren Ursprung verdanken.

Was die Lokalisation der Cytaster anbelangt, so treten sie auf dem ganzen Plasmaterritorium, am häufigsten aber in dessen peripherischer Partie auf.

Gleichzeitig mit diesen Änderungen am Plasma selbst und an der Grenze des Kernes kommen mehrere Centren zum Vorschein, welche — wie ich bereits oben erwähnt habe — wahrscheinlich teilweise auch dem Centrosom des Spermatozoons entstammen; sie sind es, die zu Teilungscentren der künftigen pluripolaren Kernteilungsfigur werden.

Das Spermatozoon wird in seiner Wanderung aufgehalten und mitunter findet man noch 1 Std. 10 Min. nach der Besamung Spermatozoen im Plasma, die mit dem Eikern noch nicht verbunden sind.

Außer den oben geschilderten lassen sich im Kern keine andern Änderungen wahrnehmen. Nach Übertragung der Eier in Seewasser glätten sich die Ränder der Kerne und ihr Volumen wird ein wenig größer. Die Ausschickung zur Teilung, d. h. die Prophase beginnt eine Stunde nach der Herausnahme der Eier aus der hypertonischen Lösung, nach $1^1/_2$ Std. befindet sich die Mehrzahl der Eier im Stadium der Meta- und

Anaphase; nach 1 Std. 45 Min. besitzt ein beträchtlicher Teil der Eier bereits je zwei Kerne.

Nach 2 Stunden verschmelzen in einigen Eiern die Kerne zu einem einzigen Synkarion, in den übrigen dagegen beginnt sich jeder Kern einzeln zur zweiten Teilung anzuschicken. In der karyokinetischen Figur selber lassen sich weder in der Struktur der Chromosomen noch in derjenigen der Spindel irgendwelche Änderungen wahrnehmen, es treten dagegen sehr häufig pluripolare Figuren auf. In dieser Zeit findet man auch nur ausnahmsweise Eier, die in zwei Blastomeren geteilt sind.

$15^1/_2$ Std. nach der Befruchtung befindet sich ein Teil der Eier im Blastula-, die überwiegende Mehrzahl dagegen im Morulastadium. Aus mikroskopischen Präparaten ersieht man, daß diese Morulae aus Zellen von sehr verschiedener Form und Größe bestehen. Mitunter liegt in der Mitte einer solchen Morula eine große Plasmamasse mit einem Riesenkern, der ringsherum von winzigen Zellen umgeben ist. Diese Bilder erinnern lebhaft an die in der ersten Serie der vorhergehenden Versuchsgruppe geschilderten und scheinen darauf hinzudeuten, daß der Verlauf der Teilung hier ein sehr unregelmäßiger war, und daß wahrscheinlich je nach den Änderungen im Plasma der einzelnen Blastomeren sich die einen von ihnen schneller, die andern langsamer geteilt haben.

Schon an Eiern, die $2^1/_2$ Std. nach der Befruchtung fixiert wurden, konnte man beobachten, daß sowohl die im Beginn der Teilung begriffenen als auch die bereits geteilten Eier entweder gar keine oder nur eine minimale Zahl von Cytastern besaßen. Dagegen waren letztere noch in solchen Eiern anwesend, die noch keine Anzeichen von Plasmateilung aufwiesen. Dasselbe Faktum läßt sich auch an Eiern feststellen, die $3^1/_2$ Std. nach der Befruchtung fixiert wurden und von denen ein Teil sich bereits im Vier- und Achtblastomerenstadium befunden hat. Vorwiegend waren die Cytaster in ungeteilten Eiern anwesend, in sich teilenden dagegen nur ausnahmsweise und in unbedeutender Anzahl, wobei sie auch nicht auf alle Blastomeren gleich verteilt waren.

III. Die dritte Serie der Versuche wurde in folgender Weise angestellt: Die Eier eines und desselben Weibchens wurden in fünf Gruppen geteilt und alle gleichzeitig besamt; in den in Tab. II (S. 170) angegebenen Zeitabständen wurden dann die Eier der einzelnen Gruppen in die hypertonische Lösung (bestehend aus 50 ccm Seewasser + 8,8 ccm $2^1/_2$ n. NaCl-Lösung) gebracht. Aus der hypertonischen Lösung wurden die Eier wieder zurück in Seewasser übergeführt und von Zeit zu Zeit portionsweise fixiert. Der detaillierte Verlauf des Versuchs ist aus Tab. II zu ersehen.

Tabelle II.

Nr.	Besamung	In die hypertonische Lösung	In Seewasser	Fixierung				Entwicklungsdauer
				6 Std. 55 Min.	7 Std. 25 Min	7 Std. 55 Min.	8 Std. 15 Min.	
1	6 Std.	6 Std. 10 Min.	6 Std. 45 Min.	7 » 10 »	7 » 40 »	8 » 10 »	—	2 Std. 15 Min.
2	6 »	6 » 25 »	7 » — »	7 » 25 »	7 » 55 »	8 » 15 »	—	2 » 15 »
3	6 »	6 » 40 »	7 » 15 »	7 » 40 »	8 » 10 »	8 » 20 »	—	2 » 20 »
4	6 »	6 » 55 »	7 » 30 »	7 » 55 »	8 » 25 »	8 » 35 »	—	2 » 25 »
5	6 »	7 » 10 »	7 » 45 »					

Bei der Wahl der Zeitabstände, in denen ich die einzelnen Portionen von Eiern der Einwirkung der hypertonischen Lösung ausgesetzt habe, habe ich mich von der Absicht leiten lassen, verschiedene und voneinander sich prinzipiell unterscheidende Momente ihrer Entwicklung festhalten zu können. Die erste Gruppe veranschaulicht den Augenblick, wo sich der Spermakopf dem Eikern nähert, die zweite stellt den Zeitpunkt der Kernkopulation dar, in der dritten befinden sich die Kerne in der Teilungsprophase; in den Gruppen 4 und 5 endlich sind sie in der Mitose begriffen, die Kernmembran ist bereits zerflossen und die Kernsubstanz liegt frei im Plasma eingebettet.

In den einzelnen Gruppen treten auch gewisse Unterschiede in dem Verhalten des Centrosoms und der Strahlung zutage. In der ersten, vierten und fünften Gruppe der Eier ist die Strahlung am stärksten entwickelt; in der zweiten und dritten Gruppe befindet sich das Centrosom gerade im Zustande der sogenannten Pause, wo es häufig unsichtbar und seine Strahlung bedeutend schwächer wird.

Die in den einzelnen Gruppen von Eiern dieses Versuchs auftretenden Unterschiede betreffen einerseits das Plasma bzw. die Strahlungen und das Centrosom, andrerseits den Kern.

Die im Plasma zutage tretenden Änderungen äußern sich darin, daß überall eine deutliche Verzögerung des Entwicklungstempos und eine Hemmung der Plasmateilung stattfindet. Da ich nicht in der Lage war, weitere Entwicklungsstadien zu beobachten, so kann ich nur den Zeitpunkt der ersten Teilungen in zwei Blastomeren verzeichnen. Dieser Zeitpunkt ist für alle Gruppen fast ein und derselbe.

Was die morphologischen Änderungen, d. h. die Cytasterbildung anbelangt, so lassen

sich in dieser Hinsicht gewisse Unterschiede statuieren, indem nämlich in der ersten, vierten und fünften Gruppe sich im allgemeinen in den einzelnen Zellen bedeutend weniger Cytaster gebildet haben und auch die Zahl der Zellen, die überhaupt Cytaster aufweisen konnten, geringer war, während hingegen in der zweiten und dritten Gruppe ein sehr beträchtlicher Teil von Zellen im Besitze von Cytastern ist und auch die Zahl derselben in den einzelnen Zellen ziemlich bedeutend ist. Somit kann man annehmen, daß das Auftreten von Cytastern im Plasma bis zu einem gewissen Grade von dem Zustande des Centrosoms und der Strahlung abhängig ist.

Was die Änderungen am Kern anbetrifft, so stellen sie sich äußerst charakteristisch dar. Zwar lassen sich in den ersten drei Gruppen von Eiern, d. h. dort, wo die Kernmembran noch nicht zerstört war, kaum irgendwelche Änderungen an der Kernsubstanz sowohl, wie auch an der karyokinetischen Figur wahrnehmen. Hier und da nur kann man mehrpolige Figuren beobachten. Die Eier der vierten und fünften Gruppe dagegen, die vorwiegend in der Karyokinese begriffen waren, weisen an der Kernsubstanz durchgreifende Änderungen auf und zwar von der Art, wie sie in den Serien 3 und 4 der ersten Gruppe von Versuchen geschildert worden sind (vgl. S. 155).

Es muß jedoch bemerkt werden, daß diese Unterschiede in dem Verhalten der Kernsubstanz in den einzelnen Phasen des Befruchtungsvorgangs nicht in allen Lösungen gleich scharf hervortreten. Dazu ist eine gewisse Konzentration der Lösung erforderlich, d. h. etwa wie im vorliegenden Falle, 8,8 ccm $2^1/_2$-n. NaCl-Lösung auf 50 ccm Meerwasser. Wenn wir uns die Versuchsergebnisse der ersten und zweiten Serie der ersten Versuchsgruppe, in welcher schwächere Lösungen zur Anwendung gelangt waren, vergegenwärtigen, so werden wir uns erinnern, derartige Änderungen in der Struktur der Kernsubstanz in jenen Serien nicht beobachtet zu haben.

Fassen wir nunmehr die Ergebnisse unsrer Versuche über den Einfluß hypertonischer Lösungen auf befruchtete Eier zusammen und vergleichen sie mit den Resultaten andrer Autoren, die sich gleichfalls mit dieser Frage vom morphologischen Standpunkt aus beschäftigt haben, so gelangen wir zu der Überzeugung, daß durch die Einwirkung der hypertonischen Lösungen ohne Rücksicht auf ihre chemische Zusammensetzung stets die gleichen morphologischen Bilder im Plasma sowohl der befruchteten, wie der unbefruchteten Eier hervorgerufen werden. Werden nämlich die Eier verschiedener Tierspecies der Einwirkung irgendeiner hypertonischen Lösung ausgesetzt, so bilden sich Cytaster in denselben.

Morgan hat bei Eiern von Echiniden, Seesternen, *Cerebratulus*, *Sipunculus* und *Phallusia* durch Zusatz von NaCl und $MgCl_2$ zu Meerwasser künstliche Cytaster erzielt. Wilson hat dieselbe Erscheinung bei *Toxopneustes variegatus* unter dem Einfluß von $MgCl_2$ beobachtet; dasselbe haben Bataillon bei *Rana fusca* und *Petromyzon Planeri* unter dem Einfluß verschiedener Salze und konzentrierter Zuckerlösungen, Yatsu bei *Cerebratulus* und ebenso viele andre Forscher festgestellt.

Es mag jedoch nicht unerwähnt bleiben, daß es bei einigen der untersuchten Species nicht gelungen ist, die Entstehung von Cytastern unter dem Einfluß hypertonischer Lösungen zu beobachten.

Was nun die Herkunft dieser Gebilde und die Rolle, die sie in der Entwicklung des Embryos spielen, anbetrifft, so ist darüber bereits eine sehr umfangreiche Literatur vorhanden.

Morgan (28) hat sich als erster damit befaßt und darauf hingewiesen, daß die Cytaster bei der Wanderung der Chromosomen mitwirken können. Wilson (39), Yatsu(17) und Stevens (38) haben untrüglich nachgewiesen, daß die Cytaster im Plasma de novo entstehen, sich durch Teilung vermehren und dieselbe Rolle spielen können, wie das mit dem Spermatozoon eingeführte Centrosom. Diese physiologische Gleichwertigkeit des Centrosoms mit den Cytastern geben auch Boveri (2) und Kostanecki (19) zu, stellen dagegen die genetische Gleichwertigkeit, welche bis zu einem gewissen Grade von Morgan (29, 30) und Lefèvre (46) postuliert wird, in Abrede.

Andre Autoren sprachen sich gegen die Entstehung der Cytaster de novo sowie gegen ihre physiologische Gleichwertigkeit mit dem Centrosom des Spermatozoons aus. So ist z. B. Petrunkewitsch (33) der Ansicht, daß es zweierlei Arten von Cytastern gibt; die einen, welche im Innern einen deutlichen Centralkörper besitzen, verdanken ihren Ursprung der mehrfachen Teilung des Centrosoms des Spermatozoons, die andern hingegen bestehen aus gekreuzten Plasmafasern ohne Centralkörper. Nur die ersteren können zu Centren der Kernteilung werden. Meves (27) behauptet wiederum, daß die Centralkörper der Plasmacytaster sich von den im Plasma verstreuten Centriolen ableiten lassen, die ihrerseits von dem Centrosom, das aus der Teilung bei der Ausstoßung des zweiten Richtungskörpers herstammt, übriggeblieben sind. Eine ähnliche Ansicht vertritt auch Schaposchnikoff (37).

Was nun meine Versuchsergebnisse anbetrifft, so kann ich feststellen, daß der Zeitpunkt der Cytasterbildung von der Konzentration der hypertonischen Lösung abhängig ist. Treten nämlich in Eiern, die der Einwirkung der schwächsten hypertonischen Lösung ausgesetzt

waren, die ersten Cytaster erst etwa 60 Min. nach Übertragung der Eier in normales Seewasser auf, so erscheinen sie in der zweiten Serie in einigen Eiern bereits nach 20 Min., während sie nach 30 Min. schon ganz beträchtliche Plasmabezirke einnehmen. In der vierten Serie kann man die Bildung von Cytastern sogar schon in der hypertonischen Lösung selbst beobachten.

Hierbei muß jedoch die in allen drei Versuchsreihen zutage tretende Erscheinung hervorgehoben werden, daß nämlich die Cytaster vorwiegend in ungeteilten Eiern auftreten, hingegen in solchen, die sich im Zweiblastomerenstadium befinden, nur ausnahmsweise anzutreffen sind. Etwas anders liegen die Verhältnisse in der vierten Serie der ersten Gruppe; während man nämlich hier bereits in der hypertonischen Lösung Cytaster sowohl in ungeteilten wie in geteilten Eiern beobachten kann, schwinden selbige zum meisten in den geteilten Eiern nach der Überführung in Seewasser, verbleiben dagegen in den ungeteilten und einem geringen Bruchteil der geteilten Eier.

Und noch eine andre Tatsache verdient unser Interesse, daß nämlich in allen Zellen mit einer größeren Anzahl von Cytastern die Plasmateilung hintangehalten wird; ihre Teilung hebt erst dann an, wenn die Cytaster zu schwinden beginnen. Andrerseits weisen in Furchung begriffene Eier niemals eine größere Anzahl von Cytastern auf. Eine solche treffen wir im Gegenteil nur bei solchen Eiern an, deren Entwicklung gehemmt ist und die sich zu teilen aufgehört haben. Dieselbe Tatsache läßt sich mitunter auch an den einzelnen Blastomeren beobachten, nämlich daß diejenige Blastomere, deren Entwicklung zum Stillstand gekommen ist, gewöhnlich auch eine große Anzahl von Cytastern besitzt (Fig. 7).

Betreffs der Morphogenese der Cytaster mag bemerkt werden, daß sie nach der Einwirkung der hypertonischen Lösung sich von wolkenartigen hyaloplasmatischen Zusammenballungen zu immer regulärereren Strahlungen entwickeln und daß auch die Bildung ihres Centralkörpers mit dieser Strukturänderung gleichen Schritt hält. Die gleiche Ansicht hatten schon früher Wilson (39), Morgan (28, 29, 30) und Yatsu (17) ausgesprochen.

In stärkeren Lösungen vollzieht sich die Bildung der Cytaster bedeutend schneller. Man kann in diesem Falle beobachten, daß sie sich entweder an der Stelle entwickeln, wo eben die Strahlung bestanden hat, oder aber auf deren Peripherie; die diesbezüglichen Präparate erwecken dann den Eindruck, als ob die Cytaster ihren Ursprung von dem Material der Strahlungen selbst, die das Spermocentrosom umgeben, nähmen. Auf einen ähnlichen Zusammenhang zwischen dem Strahlungsmaterial

des Spermatozoons und den in der Entstehung begriffenen Cytastern deutet auch eine bereits von Morgan und Wilson festgestellte Tatsache hin, die ich auf Grund meiner Präparate nur bestätigen kann, daß nämlich mit der fortschreitenden Entwicklung der Cytaster sich der Umfang der Spermastrahlung verringert. Dafür spricht auch die in dem letzten Versuch beobachtete Erscheinung, wo in den Eiern, die in verschiedenen Zeitpunkten nach der Besamung der Einwirkung der hypertonischen Lösung ausgesetzt wurden, nicht die gleiche Anzahl von Cytastern aufgetreten ist. Die Menge der sich bildenden Cytaster steht also auch hier in einer gewissen Abhängigkeit von dem Zustande der Spermastrahlung (vgl. S. 171).

Auf Grund aller dieser Daten können wir meines Erachtens zwei Tatsachen feststellen: 1) den Zusammenhang zwischen dem Auftreten einer größeren Anzahl von Cytastern und der Teilungsfähigkeit des Plasmas, 2) die Abhängigkeit der Cytasterbildung von dem Zustande der Spermastrahlung oder mit andern Worten das Abhängigkeitsverhältnis zwischen dem Material der Cytaster und demjenigen der Spermatozoen.

Was die erste Tatsache anbetrifft, so haben schon Morgan (28), und Wilson (39) festgestellt, daß bei Gegenwart einer größeren Anzahl von Cytastern das Plasma nicht mehr fähig ist, sich in zwei gleiche Blastomeren zu teilen, obgleich beide Autoren angeben, in solchen Fällen die Absonderung kleiner kernloser Plasmasegmente mit nur je einem Cytaster beobachtet zu haben. Von einer gleichen Beobachtung berichtet auch Bataillon.

Wilson erklärt die in diesen Fällen zutage tretende Unfähigkeit des Plasmas zur Teilung mit der allzu großen Entfernung zwischen den einzelnen wirkenden Centren. Th. Boveri (68) hat in einigen Fällen bei Echinideneiern, die eine größere Anzahl von Cytastern besaßen, beobachtet, daß die Plasmateilung nur zwischen solchen Centren stattfindet, zwischen denen Chromatinsubstanz vorhanden ist. Aus dieser Erscheinung hat er den Schluß gezogen, daß die Anwesenheit des Kernes eine unumgängliche Vorbedingung für die Plasmateilung ist. M. Boveri (69), welche gezeigt hat, daß die Anwesenheit von Chromatin zwischen den Centren dieselben einander näher bringt, ist der Ansicht, daß die Deutungen Wilsons und Th. Boveris auf eins hinauslaufen, indem sie auf gleichen kausalen Voraussetzungen basieren. Indes würden die von Wilson angeführten Tatsachen, wo sich kernlose Plasmasegmente mit nur je einem Cytaster von der übrigen Plasmamasse abgesondert haben, wie auch die Versuche Zieglers (42, 43) gegen die Behauptung Boveri sprechen. Ziegler ist es nämlich gelungen, eine Blastula zu erhalten,

deren eine Hälfte aus Zellen mit Kernen bestand, während die andre kernlos war; in der letzteren treten während der ganzen Furchungsdauer stets je zwei Astrosphären auf, deren Entwicklung, Teilung und Schwinden immer synchronisch mit den gleichen Prozessen in den Kerne besitzenden Zellen verlief. Auf Grund dieser Tatsachen müßte man die angeführte Behauptung Boveris dahin einschränken, daß die Anwesenheit des Kernes zur Plasmateilung nicht unbedingt erforderlich ist, sondern daß die Centrosomen allein unter gewissen Umständen dieser Funktion genügen können, sofern ihrer nicht mehr als zwei in jeder Zelle vorhanden sind.

Ist dagegen eine größere Anzahl dieser Centren vorhanden, so kann der Teilungsprozeß — wie die angeführten Autoren übereinstimmend feststellen und wie ich es auch auf Grund meiner eignen Versuchsergebnisse bestätigen kann — auch trotz der Anwesenheit eines Kernes große Störungen erfahren oder gar völlig gehemmt werden. Hat doch auch Boveri bereits 1902 die Ansicht ausgesprochen, »daß normale Zellteilung und also auch normale Entwicklung nur dann eintreten kann, wenn in der sich zur Teilung anschickenden Zelle zwei und nicht mehr als zwei Centren vorhanden sind«. Dies bezieht sich sowohl auf die normale Entwicklung, wie auch auf die künstliche Parthenogenese.

Das Auftreten einer größeren Anzahl von Cytastern ist somit ein Anzeichen gewisser Störungen im Plasma, die mit den die Plasmateilung regierenden Kräften in Verbindung stehen und sozusagen eine Zersplitterung dieser Kräfte verursachen, wodurch höchstens eine Abtrennung kleiner Plasmasegmente, niemals aber eine Teilung der ganzen Zelle in zwei gleiche Teile zustande kommen kann.

Die zweite Tatsache steht mit der soeben erörterten im innigen Zusammenhange. Morgan (30) hat an Eiern, welche in Meerwasser mit einem Zusatz von 1,5% NaCl gezüchtet wurden, die Bildung einer Spindel mit zwei Centrosomen beobachtet. Letztere wachsen zu bedeutenden Dimensionen an, und das ganze Cyanoplasma gruppiert sich um sie herum, während der Rest des Eies sich bedeutend schwächer färbt. Daraus schließt der Autor auf das Vorhandensein einer besonderen astrosphärenbildenden Substanz. Diese Substanz betätige sich sowohl bei der normalen Befruchtung, wie auch bei der künstlichen Parthenogenese. Sei die Entwicklung, wie im vorliegenden Falle bei *Chaetopterus* gehemmt, so könne sich diese Substanz zu zwei großen Sonnen verdichten. Zu ähnlichen Schlußfolgerungen gelangt auch Herbst (9), welcher behauptet, daß eine gewisse Substanz existiert — er nennt sie »körnchenfreies Cytoplasma« — welche unter dem Einfluß eines parthenogenetischen Reizes an gewissen Stellen in Tätigkeit treten und auf diese eine Verminderung

der Strahlung um das eindringende Spermatozoon herum bewirken kann. Boveri (2) dagegen behauptet: »Wenn sich nach R. Hertwigs fundamentaler Entdeckung in gewissen Zellen aus einem im Protoplasma verstreuten Material, dem „Chromidium", Kerne individualisieren, die sich fortan durch Zweiteilung vermehren, warum sollte da nicht auch im Protoplasma mancher Zellen ein „Centridium" existieren, aus dem unter Umständen Centrosomen entstehen mit allen Qualitäten derjenigen, die sonst als individualisierte Gebilde von der Mutterzelle auf die Tochterzelle forterben?«

Wenn wir nun auf Grund der angeführten, wie auch auf Grund derjenigen Tatsachen, die sich aus meinen eignen Versuchen ergeben, die Existenz eines gewissen morphologischen Ausdrucks der Kräfte, die im Plasma während der Teilung der Zelle wirksam sind, annehmen und diesen Ausdruck in der zweckmäßigen Anordnung der einzelnen plasmatischen Substanzen suchen, so muß eine Störung dieser Anordnung, eine Zersplitterung der die Teilung leitenden Kräfte in der Bildung einer größeren Anzahl von Centren und Strahlungen zum Ausdruck kommen.

Bei der Besprechung seiner Versuchsergebnisse über den Einfluß hypertonischer Lösungen auf befruchtete Eier nimmt Loeb (50) eine gewisse Unabhängigkeit der einzelnen, sich in diesem Falle im Plasma abspielenden Prozesse von einander an. Nach seiner Ansicht erleiden in erster Linie eine Störung die Prozesse mehr physikalischer Natur, d. h. diejenigen, die zur Plasmateilung führen, während die Prozesse chemischer Natur, wie z. B. die Umwandlung der Plasmasubstanzen in Nucleinsubstanz sich unbehindert weiter abspielen, und zwar in der Weise, »daß in solchen Eiern das Chromosomenwachstum und die Chromosomenspaltung zunächst weitergeht, und daß auch Astrosphärenbildung stattfindet, daß aber die Zerstreuung der Chromosomen bzw. der neuen Kerne, welche Protoplasmaströmung oder Kontraktionsvorgänge voraussetzt, nicht so vollkommen ist, und daß die Zellteilung ganz unterbleibt. Bei zu hoher Konzentration des Seewassers werden auch die chemischen Vorgänge der Chromatinbildung gehemmt.«

Diese auf physiologische Forschungen gestützte Annahme Loebs ist durch die in vorliegender Arbeit beschriebenen cytologischen Änderungen vollauf bestätigt worden.

Schon in der schwächsten der angewandten Lösungen tritt eine Hemmung der Plasmateilung in den einzelnen auf längere oder kürzere Zeit ein, während die andern Prozesse, wie z. B. die Bildung von Kernsubstanz und von Astrosphären fast ungeändert und unbehindert weiter fortschreiten. Dieselbe Erscheinung läßt sich bezüglich der zweiten

Versuchsreihe feststellen. Erst in der dritten und vierten Serie, wo Lösungen von stärkerer Konzentration zur Anwendung gelangt sind, sehen wir neben Störungen in der Plasmateilung auch Störungen in der Bildung und Teilung der Kernsubstanz und auch die Bildung von Astrosphären kommt zum Stillstand. Einen ähnlichen Verlauf der Änderungen, die unter dem Einfluß hypertonischer Lösungen eintreten, können wir auch am Kern beobachten. Die ersten und leisesten Änderungen, die schon in der schwächsten der angewandten Lösungen zutage treten, beruhen auf Störungen in der Wanderung der Chromosomen während der Teilung. In einer etwas stärkeren Lösung tritt diese Änderung deutlicher hervor und daneben lassen sich gewisse Unregelmäßigkeiten im Bau der Spindel wahrnehmen. Erst in den stärksten Lösungen bemerken wir neben Änderungen von mehr physikalischem Charakter eine deutliche Verzögerung des Kernsubstanzwachstums und des Tempos der Kernteilung, ja mitunter werden diese Prozesse sogar völlig gehemmt. In denjenigen Kernen, die bereits in der Teilung begriffen waren, deren Kernsubstanzwachstum aber nur eine Verzögerung erlitten hatte, traten bereits erhebliche Störungen in der Metamorphose sowohl des Chromatin- als auch des achromatischen Teiles der mitotischen Figur ein.

Lemberg, 28. Februar 1911.

Nachtrag.

Als vorliegende Arbeit bereits zum Druck fertig war, ist eine Abhandlung von F. Baltzer unter dem Titel: »Über die Beziehung zwischen dem Chromatin und der Entwicklung und Vererbungsrichtung bei Echinodermenbastarden« im Archiv für Zellforschung, Bd. V. Heft 4 erschienen. Dem Autor ist es durch wechselseitige Bastardierung verschiedener Echinidengattungen gelungen, einen Prozeß der Elimination gewisser männlichen Chromosomen zu beobachten, dem er eine wichtige und in gewisser Hinsicht ausschlaggebende Bedeutung für das Hervortreten bestimmter Vererbungsmerkmale in der Nachkommenschaft beilegt.

Der morphologische Verlauf dieses Prozesses der Chromatinelimination erinnert bis zu einem gewissen Grade an die von mir durch den Einfluß von hypertonischen Lösungen auf die Eier erhaltenen Bilder. Die in den Baltzerschen Textfig. I, IIa, VII, IX, XVIIIa und XIXa und den Tafelnfig. 25a, b, 32a, b, 33a, 36a und b wiedergegebenen Bilder gemahnen auf den ersten Augenschein völlig an meine Fig. 1 und 2, bei näherer Betrachtung treten jedoch deutliche Unterschiede zutage. An

meinen Präparaten konnte ich nämlich nirgends eine Elimination von Chromosomen, sondern nur ein Zurückbleiben der einzelnen Chromosomen in der Metaphase beobachten. Diese zurückbleibenden Chromosomen sind einfach, somit kann also die Ursache ihres Zurückbleibens in ihrer Wanderung nach den Polen zu nicht in der Unfähigkeit der Tochterchromosomen zur Teilung liegen, wie es Baltzer zur Erklärung seiner Bilder supponiert.

Zur Textfig. III führt Baltzer folgendes aus: »Die Chromosomen sind zu Bläschen geworden und zu einem einheitlichen Kern verschmolzen. Außerdem aber zieht sich von Kern zu Kern ein Chromatinstrang, den wir uns wohl aus solchen anormalen, ungeteilten Chromosomen entstanden denken dürfen. In Textfig. IV endlich«, sagt der Autor weiter, »ist ein Zweizellenstadium mit ruhenden Kernen abgebildet. Auch hier sehen wir den schon in voriger Figur beobachteten Chromatinstrang. Nur ist er hier infolge der Furchung durchgeschnürt und nach der Seite gedrängt worden. Die Bilder lehren, daß unter Umständen bei den ersten Karyokinesen der Bastardeier eine geringe Zahl von Elementen aus dem typischen karyokinetischen Vorgang eliminiert werden können.« Diese Bilder sehen meinen Fig. 29—36 ähnlich. Die Deutung jedoch, welche ich denselben gebe, ist anders als diejenige Baltzers, meinerseits konnte ich nämlich nirgends in diesen Figuren eine Chromatinelimination beobachten. Denn in den Fig. 30—33, 35, 36 konnte ich in dem die Tochterkerne verbindenden Strange nirgends Reste eliminierten Chromatins feststellen, überall sah ich hingegen deutliche achromatische Fasern. Nur in Fig. 33 fand ich in der Mitte des Stranges einen sich dunkler färbenden Körper, von dem ich jedoch nicht mit Sicherheit behaupten kann, ob es ein Stück Chromatin oder ein kompakterer Rest der Spindel, ein sogenannter Zwischenkörper ist. Derselbe Unterschied macht sich zwischen der Baltzerschen Textfig. X und den Fig. 26, 28, 29 und meinen Fig. 39—43, 45 und 50 bemerkbar. In meinen Figuren ist zwar eine ungleichzeitige Wanderung der Karyomeren deutlich zu ersehen, doch diese zurückbleibenden Karyomeren werden aus den Tochterkernen nicht eliminiert, wenigstens habe ich keine Gelegenheit gehabt, eine solche Erscheinung zu beobachten. Der Unterschied zwischen den Baltzerschen Figuren und den meinigen kennzeichnet sich noch außerdem dadurch, daß bei ihm die sich an den Polen ansammelnden Tochterchromosomen die Form völlig regelrechter Bläschen haben, und daß zwischen ihnen die veränderte Chromatinmasse gelagert ist, welche aus der gegebenen mitotischen Figur wie ausgeschieden erscheint. In meinen Figuren ist dagegen der ganze Kern in Bläschen von verschiedener Größe

geteilt, die, in der Hauptachse der Spindel liegend, sich ungleichzeitig an den Polen versammeln und zu einem einzigen Tochterkerne verschmelzen (Fig. 45, 49, 50). Nur in den Eiern und den einzelnen Blastomeren, deren weitere Entwicklung gehemmt worden ist, ist das Chromatin sehr unregelmäßig verstreut, doch dann sind auch im Plasma weder Centrosomen, noch Strahlungen wahrzunehmen. Solche Eier entwickeln sich nicht weiter und der Zuwachs ihrer Kernsubstanz ist zum Stillstand gekommen.

Literaturverzeichnis.

1. Bataillon, E. Nouveaux essais de Parthénogénèse expérimentale chez les Vertébrés inférieurs (Rana fusca et Petromyzon Planeri). Arch. f. Entw. Mechan. Bd. XVIII. 1904.
2. Boveri, T. Zellenstudien. Hft. 6. 1907.
3. Child, C. M. Amitosis as a Factor in normal and regulatory Growth. Anat. Anz. Bd. XXX. 1907.
4. —— Studies on the Relation between Amitosis and Mitosis. Biol. Bull. Vol. XII, XIII. 1907.
5. Godlewski, E. (jun.). Plasma und Kernsubstanz in der normalen und der durch äußere Faktoren veränderten Entwicklung der Echiniden. Arch. für Entwickl.-Mech. Bd. XXVI. 1908.
6. Gurwitsch, A. Morphologie und Biologie der Zelle. Jena 1904.
7. Haecker, V. Mitosen im Gefolge amitosenähnlicher Vorgänge. Anat. Anz. Bd. XVII. 1900.
8. —— Bastardierung und Geschlechtszellenbildung. Zool. Jahrb. 1904. Suppl.-Band VII.
9. Herbst, C. Vererbungsstudien. IV. Arch. f. Entwickl.-Mech. Bd. XXII. 1906.
10. —— Vererbungsstudien. V. Ebd. Bd. XXIV. 1907.
11. —— Vererbungsstudien. VI. Ebd. Bd. XXVII. 1909.
12. Hertwig, O. Experimentelle Studien am tierischen Ei vor, während und nach der Befruchtung. T. I. 1890.
13. Hertwig, O. und R. Über den Befruchtungs- und Teilungsvorgang des tierischen Eies unter dem Einfluß äußerer Agentien. Jenaische Zeitschr. Bd. XX. 1887.
14. Hertwig, R. Über Kernteilung, Richtungskörperbildung und Befruchtung von Actinosphaerium Eichornii. Abhandl. der k. bayer. Akad. der Wissensch. II. Kl. Bd. XIX. Abt. III. 1898.
15. Hertwig, O. Allgemeine Biologie. 1906.
16. Fischer und Ostwald. Zur physikalisch-chemischen Theorie der Befruchtung. Pflügers Arch. Bd. CVI. 1905.
17. Yatsu, N. The formation of centrosomes in enucleated Egg-fragments. The Journ. of experiment. Zoölogy. Vol. II. 1905.
18. Kostanecki, K. Cytologische Studien an künstlich parthenogenetisch sich entwickelnden Eiern von Mactra. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXIV. 1904.

19. Kostanecki, K. Über die Herkunft der Teilungscentren der ersten Furchungsspindel im befruchteten Ei. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXVIII. 1906.
20. —— Zur Morphologie der künstlichen parthenogenetischen Entwicklung bei Mactra. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXII. 1908.
21. Lillie, Fr. R. Observations and experiments concerning the elementary Phenomena of embryonic development in Chaetopterus. Journ. of experim. Zoology. Vol. VIII. 1906.
22. Loeb, J. Über die Superposition von künstlicher Parthenogenese und Samenbefruchtung in demselben Ei. Arch. f. Entwickl.-Mech. Bd. XXIII. 1907.
23. —— Über Kernteilung ohne Zellteilung. Arch. f. Entw.-Mech. Bd. II. 1895.
24. —— Untersuchungen über künstliche Parthenogenese. 1906. Leipzig.
25. —— Die chemische Entwicklungserregung des tierischen Eies. 1909.
26. Maximow, Al. Über Amitose in den embryonalen Geweben bei Säugetieren. Anat. Anz. Bd. XXXIII. 1908.
27. Meves, Fr. Über oligopyrene und apyrene Spermien und über ihre Entstehung usw. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXI. 1903.
28. Morgan, T. H. The Production of Artificial Astrospheres. Arch. f. Entwickl.-Mech. Bd. III. 1896.
29. —— The Action of Salt Solutions on the Unfertilized and Fertilized Eggs of Arbacia and of Other Animals. Arch. f. Entwickl.-Mech. Bd. VIII. 1899.
30. —— Further Studies on the Action of Salt solutions and other Agents on the Eggs of Arbacia. Ebd. Bd. X. 1900.
31. Nathansohn, Al. Physiologische Untersuchungen über amitotische Kernteilung. Jahrbücher f. wissensch. Botan. Bd. XXXV. 1900.
32. Norman, W. W. Segmentation of the Nucleus without Segmentation of the Protoplasm. Arch. f. Entwickl.-Mech. Bd. III. 1896.
33. Petrunkewitsch, Al. Künstliche Parthenogenese. Zool. Jahrb. Suppl.-Band VII. 1904.
34. —— Natural and artificial Parthenogenesis. American Naturalist. Vol. XXXIX. 1905.
35. Patterson, T. J. Amitosis in the Pigeon's Egg. Anat. Anz. Bd. XXXII. 1908.
36. Scott, J. W. Morphology of the Parthenogenetic Development of Amphitrite. Journ. of exper. Zool. Vol. III. 1906.
37. Schaposchnikoff, B. Polycentrische Mitosen bei der Eireifung von Acanthodoris pilosa. Anat. Anz. Bd. XXXII. 1908.
38. Stevens, N. M. Experimental Studies on Eggs of Echinus microtuberculatus. Arch. f. Entwickl.-Mech. Bd. XV. 1902.
39. Wilson, E. B. Experimental Studies in Cytology. I, II, III. Arch. f. Entwickl.-Mech. Bd. XII und XIII. 1901.
40. Ziegler, H. E. Die biologische Bedeutung der amitotischen Kernteilung im Tierreich. Biol. Centralbl. Bd. XI. 1891.
41. Ziegler, H. E. und vom Rath. Die amitotische Kernteilung bei den Arthropoden. Biol. Centralbl. Bd. XI. 1891.
42. —— Untersuchungen über die Zellteilung. Verhandl. d. deutsch. Zool. Gesellschaft. 1895.
43. —— Experimentelle Studien über die Zellteilung. Arch. f. Entwickl.-Mech. Bd. VI. 1898.

44. Wasielewski, v. W. Theoretische und experimentelle Beiträge zur Kenntnis der Amitose. Jahrb. f. wissensch. Botanik. Bd. XXXVIII, XXXIX. 1903.

45. Godlewski, E. (jun.). Das Vererbungsproblem im Lichte der Entwicklungsmechanik betrachtet. Vorträge und Aufsätze über Entwicklungsmech. Hft. IX. 1909.

46. Lefèvre, G. Artificial Parthenogenesis in Thalassema Mellita. Journ. of experim. Zoology. Vol. IV. 1907.

47. Vejdovsky, F. Neue Untersuchungen über die Reifung und Befruchtung. Prag 1907.

48. Montgomery, J. H. Study of the Chromosomes of the Germ cells of the Metazoa. Trans. Amer. Phil. Soc. Vol. XX. 1901 (nach Vejdovsky).

49. Spuler, Ar. Über die Teilungserscheinungen der Eizellen in degenerierenden Follikeln des Säugetierovariums. Anat. Hefte. I. Abt. Bd. XVI. 1901.

50. Loeb, J. Vorlesungen über die Dynamik der Lebenserscheinungen. 1906.

51. Gerassimow, J. Die kernlosen Zellen der Conjugaten. Bull. de la soc. Imp. des Nat. Moscou 1892.

52. Konopacka, Br. Die Gestaltungsvorgänge der in verschiedenen Entwicklungsstadien zentrifugierten Froschkeime. Bull. de l'Acad. des Sc. de Cracovie. 1908.

53. Delage, Y. Nouvelles recherches sur la parthénogénèse expérimentelle chez Asterias glacialis. Arch. de Zool. expér. Tom. X. 1902.

54. —— Les vrais facteurs de la parthénogénèse expérimentale. Elevage des larves parthénog. jusqu'à la forme parfaite. Arch. de Zool. expér. IV. S. T. 7. 1908.

55. Treadwell. Notes on the Nature of »Artificial Parthenogenesis« in the Egg of Podarke obscura. Biol. Bull. III.

56. Brachet, A. Recherches expérimentales sur l'œuf non segmenté de Rana fusca. Arch. f. Entwickl.-Mech. Bd. XXII. 1906.

57. Hertwig, O. Über den Einfluß der Temperatur auf die Entwicklung von Rana fusca und R. esculenta. Arch. f. mikr. Anatomie. Bd. LI. 1898.

58. —— Die Entwicklung des Froscheies unter dem Einfluß schwächerer und stärkerer Kochsalzlösungen. Arch. f. mikr. Anatomie. Bd. XLIV. 1894.

59. Loeb, J. Experiments on cleavage. Journ. of Morphol. Vol. VII. 1892.

60. Schiller, S. Über künstliche Erzeugung primitiver Kernteilungsformen bei Cyclops. Arch. f. Entwickl.-Mech. Bd. XXVII. 1909.

61. Némec, B. Über die Einwirkung des Chloralhydrats auf die Kern- und Zellteilung. Jahrb. f. wissensch. Bot. Bd. XXXV. 1900.

62. Reuter, E. Merokinesis, ein neuer Kernteilungsmodus. Acta societ. scientiar. Femicae. Helsingfors 1909.

63. Ostwald, W. Über das Vorkommen von oxydativen Fermenten in den reifen Geschlechtszellen von Amphibien und über die Rolle dieser Vorgänge bei der Entwicklungserregung. Biochem. Zeitschr. Bd. VI. 1907.

64. Boveri, Th. Das Problem der Befruchtung. Jena 1902.

65. Roux, W. Über die Bedeutung der Kernteilungsfiguren. Eine hypothetische Erörterung. Leipzig 1883, auch in Gesam. Abh. 1895. 2 Bde.

66. Roux, W., Beitrag III zur Entwicklungsmechanik des Embryo: Über die Bestimmung der Hauptrichtungen des Froschembryo im Ei und über die erste Teilung des Froscheies. Breslauer ärztliche Zeitschr. 1885, auch Gesam. Abh. Bd. II.

67. Krahelska, M. Sur le développement merogénique des œufs du Psammechinus. Bull. de l'Acad. des Scienc. de Cracovie. 1905.

68. Boveri, Th. Zur Physiologie der Kern- und Zellteilung. Sitzungsber. d. Phys. med. Gesellsch. Würzburg 1897.

69. Boveri, M. Über Mitosen bei einseitiger Chromosomenbindung. Jenaische Zeitschr. Bd. XXXVII. 1902.

70. Nowikoff, M. Zur Frage nach der Bedeutung der Amitose. Arch. f. Zellforsch. Bd. V. 1910.

Erklärungen zu Tafel IX—XI.

Fig. 1—10. *Echinus*-Eier 60 Min. nach der Besamung der Einwirkung der hypertonischen Lösung (50 ccm Meerwasser + 5 ccm $2^1/_2$-n. NaCl-Lösung) auf die Dauer von 30 Min. ausgesetzt, darauf in normales Meerwasser zurückgebracht und fixiert:

Fig. 1, 2 nach 15 Min.

Fig. 3, 5, 6 nach 1 Std. 36 Min.

Fig. 4 nach 1 Std. 51 Min.

Fig. 7, 8, 9 nach 8 Std. 36 Min.

Fig. 10 nach 19 Std. 21 Min.

Fig. 11. *Echinus*-Ei 60 Min. nach der Besamung der Einwirkung der hypertonischen Lösung (50 ccm + 8 ccm $2_1/_2$-n. NaCl) auf die Dauer von 30 Min. ausgesetzt, darauf in normales Meerwasser zurückgebracht und fixiert nach 1 Std. 36 Min.

Fig. 13, 14, 18, 24, 26, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35. *Strongylocentrotus*-Eier 55 Min. nach der Besamung in die hypertonische Lösung (50 ccm Meerwasser + 8,8 ccm $2^1/_2$-n. NaCl-Lösung) auf die Dauer von 35 Min., darauf wieder zurück in norm. Meerwasser gebracht und fixiert:

Fig. 14, 18, 26 nach 10 Min.

Fig. 29 nach 40 Min.

Fig. 13, 24, 30—35 nach 50 Min.

Fig 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22, 23, 25, 27, 28, 36 wie die vorigen, jedoch erst 70 Min. nach der Besamung in die hypertonische Lösung gebracht und aus dem Meerwasser heraus fixiert:

Fig. 16, 17, 20, 25, 27 nach 10 Min.

Fig. 36 nach 40 Min.

Fig. 15, 19, 21, 22, 23, 28 nach 50 Min.

Fig. 12, 37, 38, 39, 40—47. *Strongylocentrotus*-Eier 60 Min. nach der Besamung in die hypertonische Lösung (50 ccm Meerwasser + 9,5 ccm $2^1/_2$-n. NaCl-Lösung) auf die Dauer von 30 Min., darauf zurück in Meerwasser gebracht und fixiert:

Fig. 37, 38, 39, 44, 46, 47 nach 25 Min.

Fig. 40, 42 nach 60 Min.

Fig. 41, 43 nach 70 Min.

Fig. 45 nach 80 Min.

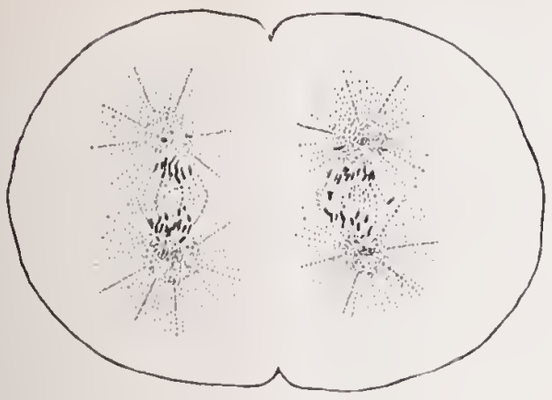


Fig. 1.

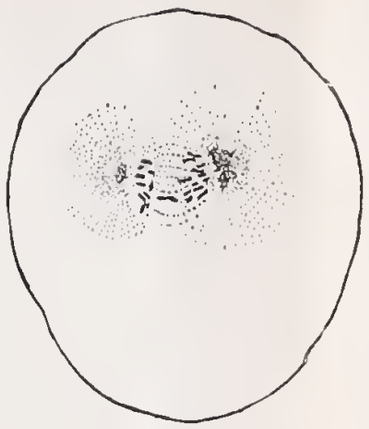


Fig. 2.

Fig. 7.

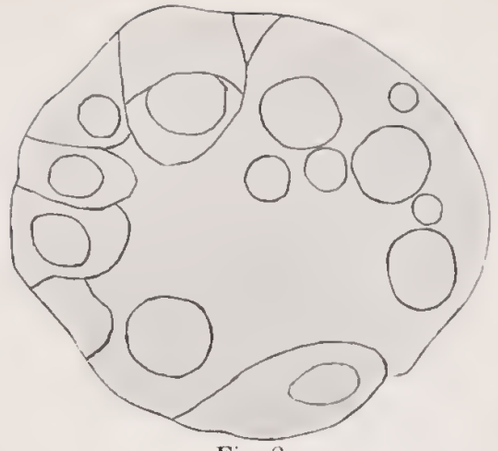


Fig. 8.

Fig. 3.

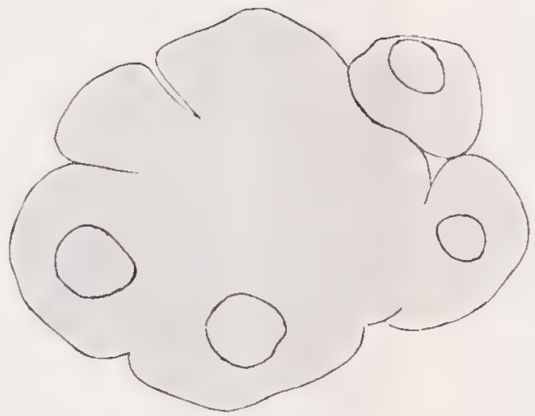


Fig. 4.

Fig. 9.

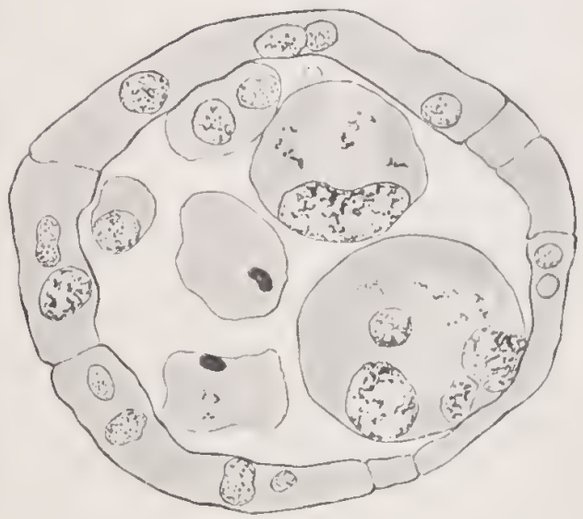


Fig. 10.

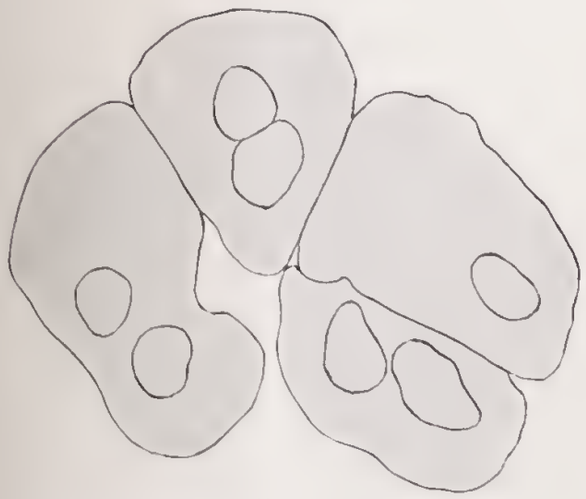


Fig. 5.

Fig. 6.

Fig. 11.

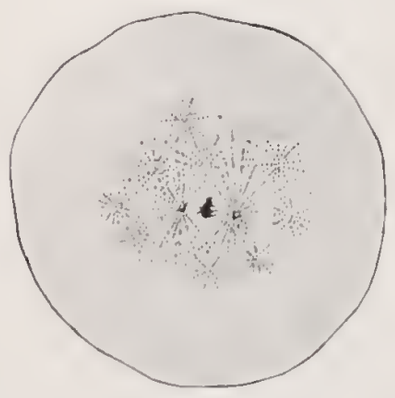


Fig. 12.

Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig.

Fig. 13.

Fig. 14.

Fig. 22.

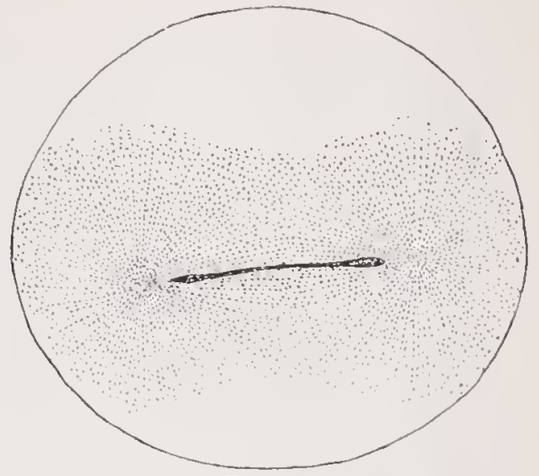


Fig. 23.

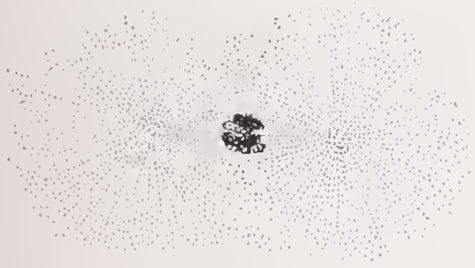


Fig. 15.

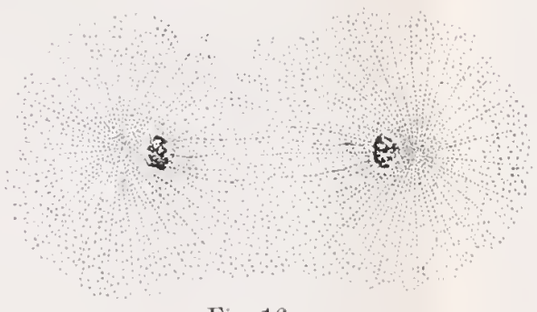


Fig. 16.

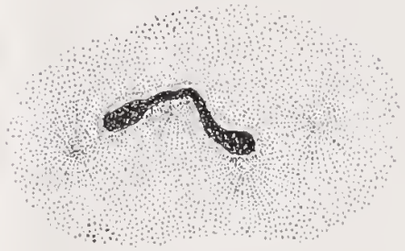


Fig. 24.

Fig. 25.

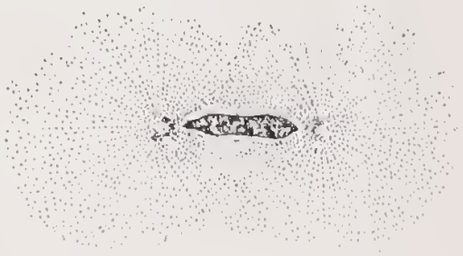


Fig. 26.

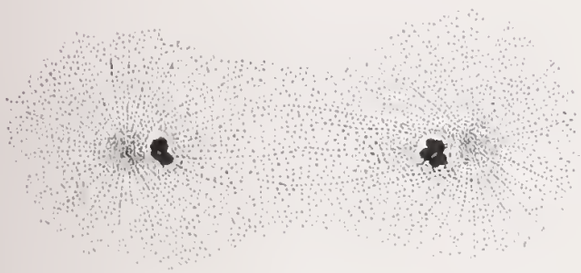


Fig. 17.

Fig. 18.

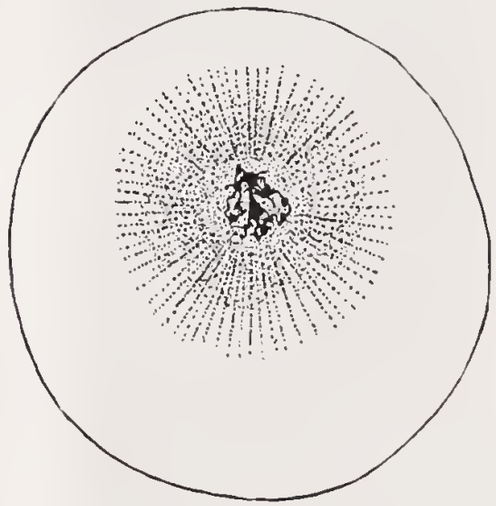


Fig. 27.

Fig. 29.

Fig. 28.

Fig. 19.

Fig. 20.

Fig. 21.

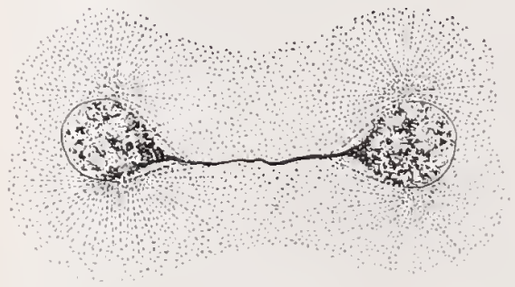


Fig. 31.

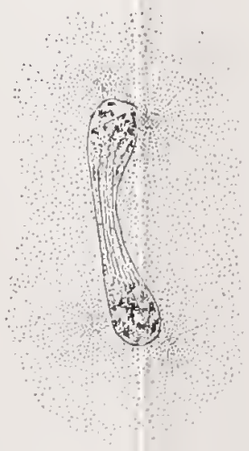


Fig. 30.

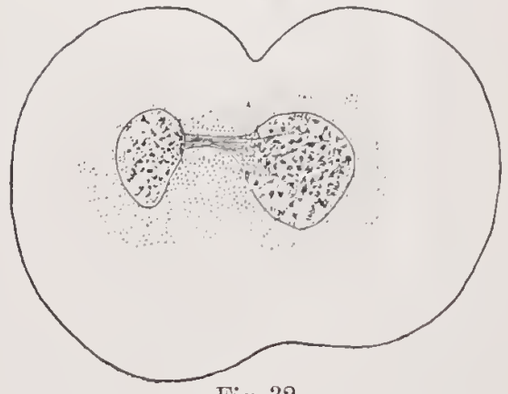


Fig. 32.

Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig.

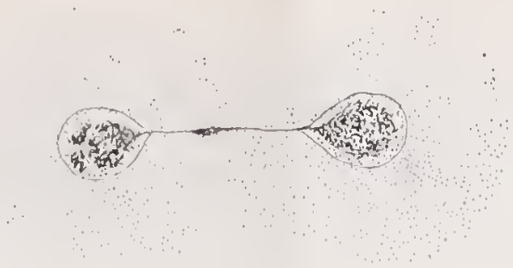


Fig. 33.

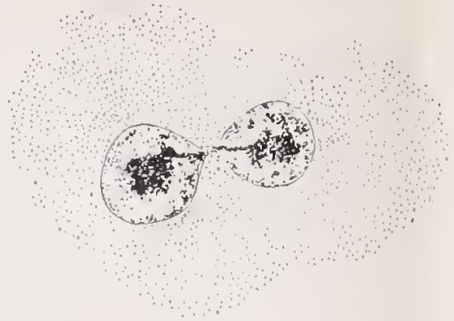


Fig. 34.

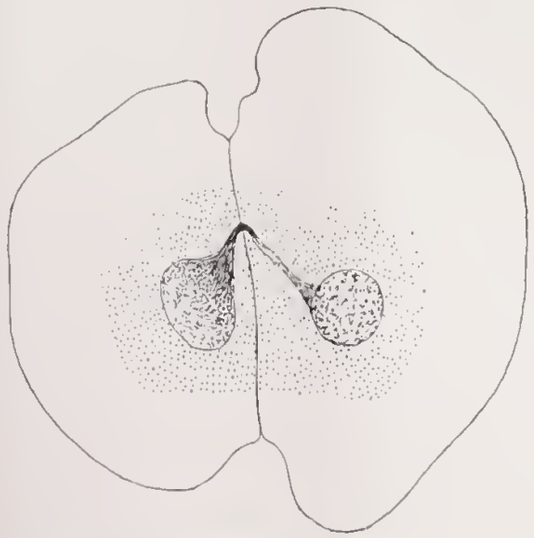


Fig. 35.

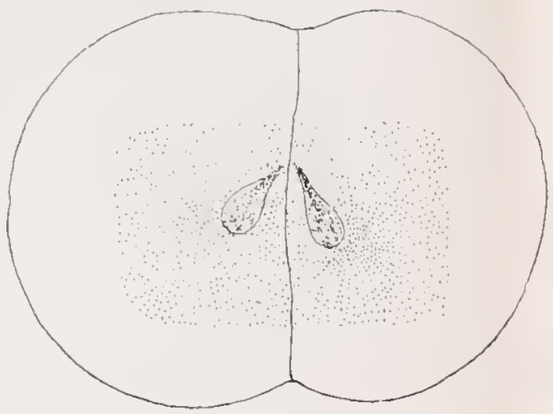


Fig. 36.

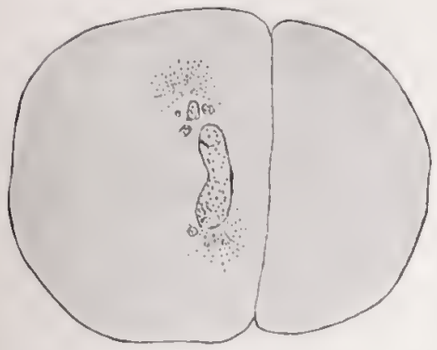


Fig. 37.

Fig. 38.

Fig. 39.

Fig. 40.

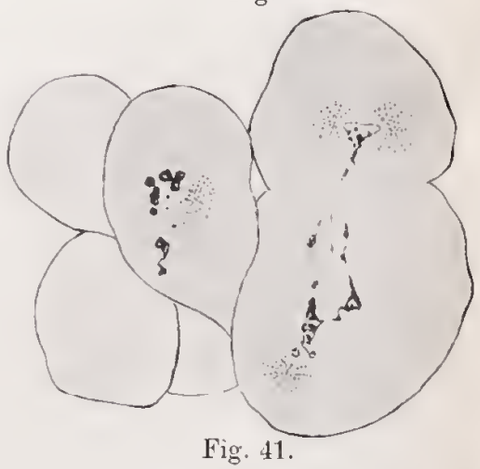


Fig. 41.

Konopacki.

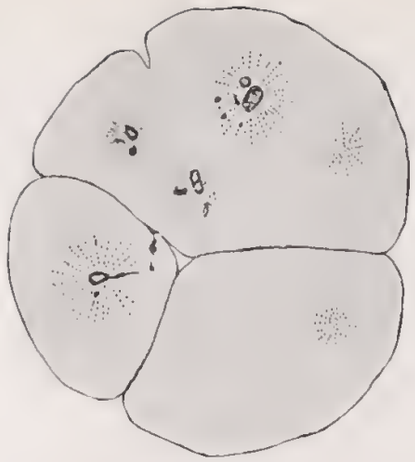


Fig. 42.

Fig. 46.

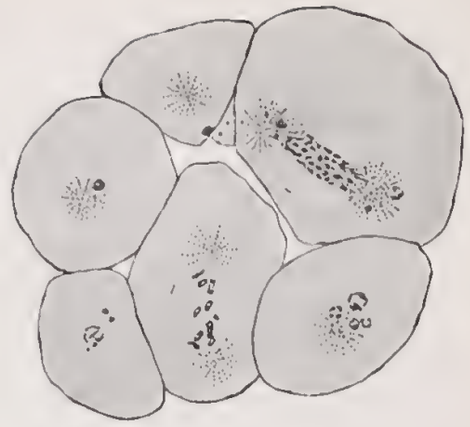


Fig. 43.

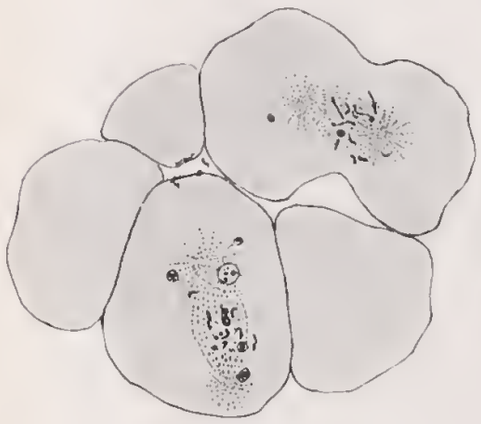


Fig. 45.

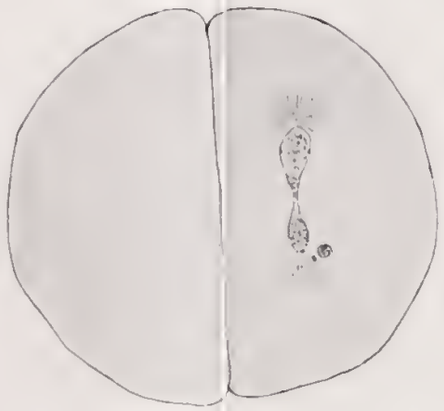


Fig. 48.

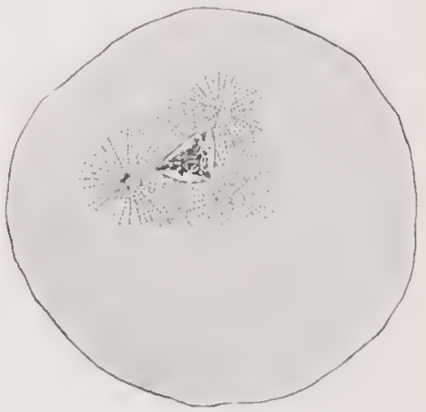


Fig. 44.

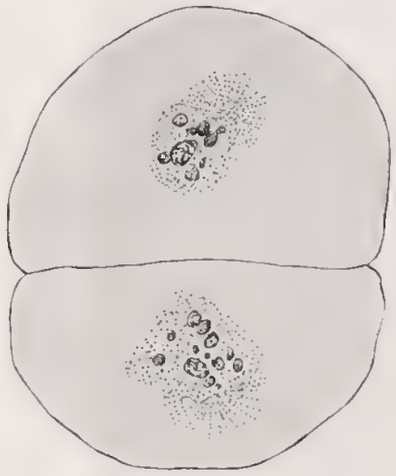


Fig. 49.

Fig. 50.

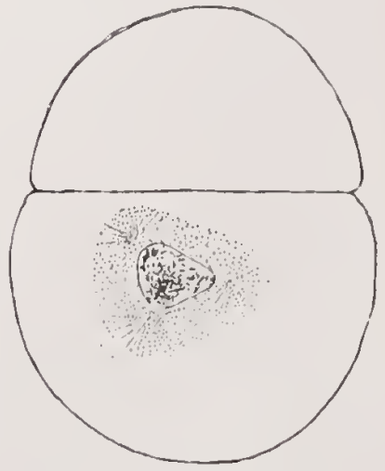


Fig. 47.

Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig.

Fig. 12 direkt aus der hypertonischen Lösung nach 28 Min. langem Verweilen in derselben.

Die Abbildungen wurden teilweise mit dem Abbeschen Zeichenapparat von Zeiss auf Objekttischhöhe, teilweise mit dem Zeichenocular von Leitz gezeichnet.

Fig. 1, 2, 7, 12, 19, 21, 27, 28, 37, 39—45, 47—50. Homog. Imm. 1/12. Zeiss und Zeichenocular von Leitz Nr. 2.

Fig. 38, 46. Homog. Imm. Zeiss 1/12 und Zeichenocular von Leitz Nr. 4. Tubuslänge 200.

Fig. 3, 4, 5, 6, 8—11. Objektiv E. Zeiss und Zeichenocular von Leitz. Nr. 4.

Fig. 13—18, 20, 22—26, 29—36. Homog. Imm. 2. Zeiss und Komp.-Ocul. Nr. 6.

Studien über die Zellgröße.

Zweite Mitteilung[1]).

Über den Einfluß der Kastration auf die Zellgröße.

Von

Dr. **Andreas Berezowski**
(Krakau).

I. Einleitung.

In der ersten Mitteilung[2]) dieser Studien habe ich das Verhältnis zwischen der Zellgröße und der Gesamtgröße des wachsenden Organismus untersucht und bin zu folgenden Ergebnissen gekommen:

1. Mit der Zunahme der Gesamtgröße des wachsenden Organismus ist eine Zunahme der Zellgröße, nämlich eine Verlängerung der Zelle und des Kernes zu bemerken.

2. Das Wachstum des Organismus wird also nicht nur durch die Vermehrung der Zellen, sondern auch durch die Zunahme der Zellgröße bedingt.

Ich habe mir in den weiteren Abschnitten meiner Studien die Aufgabe gestellt, einige Beiträge zur Lösung der Frage zu liefern, ob und in welchem Grade verschiedene Faktoren die Zellgröße beeinflussen. In der vorliegenden Mitteilung untersuchte ich den Einfluß der Kastration auf die Zellgröße.

Auf diesem Gebiete ist die Arbeit von Prof. Malsburg[3]) zu nennen, welcher die Durchmesser der gestreiften Muskelfasern von Musculus

---

[1]) Diese Arbeit wurde in dem Institut für allgemeine und experimentelle Pathologie der Jagellonschen Universität in Krakau ausgeführt.

[2]) Archiv für Zellforschung. Bd. V. Hft. 3.

[3]) Polnisch: Prof. Karol Malsburg, Histologiczny problemat hodowlany. Roczniki nauk rolniczych. T. IV, z. 1.

gastrocnoemius und Musculus abdominalis rectus einerseits beim Stier und Hengst, anderseits beim Ochsen und Wallachen gemessen hat. Die Untersuchungen führten zu dem Ergebnis, daß der Durchmesser der genannten Muskelfasern bei verschnittenen Tieren, also bei Ochsen und Wallachen durchschnittlich kleiner ist, als bei Stieren und Hengsten.

Als Material für meine Untersuchungen dienten nur Männchen von weißen Mäusen. Von jedem Wurfe wurden die Hälfte von Männchen drei Wochen nach der Geburt kastriert, die übrigen dagegen dienten als Kontrolltiere. Sowohl die kastrierten wie auch die zur Kontrolle dienenden Tiere stammten also aus einem und demselben Wurfe und wurden in gleichen Versuchsbedingungen gehalten. Acht Monate nach der Geburt wurden alle Versuchstiere getötet und untersucht. Leider waren mir während der Versuchszeit einige Versuchstiere zugrunde gegangen, so daß mir gegen das Ende der Versuchszeit nur drei Würfe blieben, die ich als Familie A. B und C bezeichne. Jeder Wurf bildet eine Familie. Familie A besteht aus zwei kastrierten und einem Kontrolltier, Familie B aus einem kastrierten und zwei Kontrolltieren, Familie C aus zwei kastrierten und zwei Kontrolltieren.

II. Ergebnisse der Zellmessungen bei kastrierten und bei Kontrolltieren.

Da ich in der vorliegenden Untersuchung vollständig dasselbe methodische Verfahren gewählt habe, wie in meiner ersten Mitteilung, so erlaube ich mir hier nur kurz zu bemerken, daß ich Darmepithelzellen gemessen habe, als Fixierungsflüssigkeit diente mir Sublimateisessig, die Präparate wurden mit Eisenalaun und Eisenhämatoxylin nach Heidenhain gefärbt. Bei Zellenmessungen bediente ich mich des Homog.-Immers.-Systems Zeiss 1/18, mit Ocularmikrometer 3, bei normaler Tubuslänge.

Die drei folgenden Tabellen enthalten die Resultate der Messungen bei den drei Familien A, B und C. In jeder Tabelle stelle ich die Durchschnittszahlen aus 50 Messungen der Länge und Breite der Zellen, ferner auch des großen und des kleinen Durchmessers des Kernes, die Maximal- und Minimalzahlen, endlich die Größen der Oberfläche der Zelle, des Kernes und die Kernzellrelation zusammen. Die Art und Weise, wie ich die Oberfläche der Zelle und des Kernes, dann die Kernzellrelation berechne, ist die gleiche, wie in der ersten Mitteilung dieser Studien.

Tabelle I.

Familie A.

N N der Versuchstiere			1 Kastriert	2 Kastriert	3 Kontrolltier
Zelle	Länge in Mikr.	Durchschnitt	20,5	18,5	17,9
		Maximum	27	21	22
		Minimum	11	13	10
	Breite in Mikr.	Durchschnitt	5	5	4,9
		Maximum	6	6	6
		Minimum	4	4	4
Kern	Großer Durchm. in Mikr.	Durchschnitt	6,5	6,6	5,7
		Maximum	9	8	7
		Minimum	5	5	4
	Kleiner Durchm. in Mikr.	Durchschnitt	4,4	4,1	4,2
		Maximum	6	5	5
		Minimum	3	3	3
Oberfläche der Zelle			102,5	92,5	87,7
Oberfläche des Kernes			22,5	21,2	18,8
Kernzellrelation			4,6	4,4	4,7

Tabelle II.

Familie B.

N N der Versuchstiere			1 Kastriert	2 Kontrolltier	3 Kontrolltier
Zelle	Länge in Mikr.	Durchschnitt	19,8	18,5	17,9
		Maximum	25	20	20
		Minimum	17	15	12
	Breite in Mikr.	Durchschnitt	5,1	5,2	4,9
		Maximum	6	6	6
		Minimum	4	5	4
Kern	Großer Durchm. in Mikr.	Durchschnitt	5,7	6,1	6,1
		Maximum	8	8	8
		Minimum	5	5	5
	Kleiner Durchm. in Mikr.	Durchschnitt	4,4	4,2	4,3
		Maximum	5	5	5
		Minimum	3	3	3
Oberfläche der Zelle			101	96,2	87,7
Oberfläche des Kernes			19,7	20,1	20,6
Kernzellrelation			5,1	4,8	4,3

Tabelle III.

Familie C.

N N der Versuchstiere			1 Kastriert	2 Kastriert	3 Kontrolltier	4 Kontrolltier
Zelle	Länge in Mikr.	Durchschnitt	21,6	21,7	17,5	17,4
		Maximum . .	30	27	25	22
		Minimum . .	15	15	14	14
	Breite in Mikr.	Durchschnitt	4,9	4,9	5	4,9
		Maximum . .	6	6	6	6
		Minimum . .	4	4	4	4
Kern	Großer Durchm. in Mikr.	Durchschnitt	6,1	6,5	6,4	6,1
		Maximum . .	8	8	8	8
		Minimum . .	5	5	5	5
	Kleiner Durchm. in Mikr.	Durchschnitt	4,2	4,1	4,7	4,3
		Maximum . .	5	5	5	5
		Minimum . .	2	3	4	4
Oberfläche der Zelle			105,8	106,3	87.5	85,3
Oberfläche des Kernes			20,1	20,9	23 6	20,6
Kernzellrelation			5,3	5,1	3,7	4.1

Obwohl ein Teil meiner Versuchstiere eingegangen und mein Material infolgedessen leider bescheidener geworden ist und trotz der nicht sehr auffallenden Unterschiede in der Zellgröße zwischen den Kastraten und Kontrolltieren in der Familie A (Tabelle I), erlaube ich mir dennoch, auf Grund der in den drei Tabellen zusammengestellten Zahlen, auf einige Ergebnisse meiner Forschung hinzuweisen, wenn auch mit allem Vorbehalt.

Der Einfluß der Kastration äußert sich in der Größe der Zelloberflächen. Kastrierte Tiere haben größere Zelloberflächen, als die Kontrolltiere. Dieses Verhältnis ist die Folge von größerer durchschnittlicher Länge der Zelle bei kastrierten, als bei Kontrolltieren. Ganz deutlich kommt es in Tabelle III zum Ausdruck.

Hier möchte ich bemerken, ohne jedoch daraus Schlußfolgerungen zu ziehen, daß ich in der ersten Mitteilung mit dem Wachstum des Organismus auch eine Verlängerung der Zelle konstatiert habe.

Die Schwankungen in der durchschnittlichen Breite der Zelle, ferner auch in dem durchschnittlichen großen und kleinen Durchmesser des Kernes sind zu klein, als daß daraus Schlußfolgerungen gezogen werden

könnten. Die Oberfläche des Kernes ist größer bei den Kastraten in der Familie A, dagegen lassen sich in den andern Familien nur unregelmäßige Variationen konstatieren. Die Kernzellrelation ist in den Familien A und B ziemlich gleich. In der Familie C ist sie größer bei den Kastraten.

Die eben angeführte Zusammenstellung der Resultate scheint auf eine Vergrößerung der Zelle, und zwar auf eine Verlängerung der Zelle bei den kastrierten im Vergleich zu den Kontrolltieren zu deuten.

Amitosis in the Ovary of Protenor belfragei and a Study of the Chromatin Nucleolus.

By

Katharine Foot and **E. C. Strobell.**

With plates XII—XX.

In studying the ovaries of insects during their period of growth it is impossible to avoid the conviction that the rapid increase in the number of nuclei which occurs at this time is not due alone to mitosis. If the development of the ovary is followed from the very young larval stages when the whole ovary is not as large as a single terminal chamber of the ovary of a mature insect, one is impressed by the rare occurrence of mitoses and the inadequacy of these rare cases to account for the rapid increase in size of the ovary during this period. Our preparations of the ovaries of *Euschistus variolarius* made in 1907 showed what we believed to be a demonstration that in this form nuclei may arise amitotically and develop into germinal vesicles, but we delayed publishing these results until we could support them by a study of the ovaries in the larval stages of *Protenor*, the form which seems to present the strongest evidence for the theory of the continuity of the chromosomes. In the summer of 1909, owing to the courtesy of our friend R. J. DE LA TORRE BUENO, we were able to obtain hundreds of mature *Protenor*. These mated and laid their eggs in the laboratory and we secured a large number of preparations of the testes, mature ovaries and embryonic divisions. We can support MORRILL's (1910) observations that these eggs are laid "one at a time". In many cases the eggs were deposited in the laboratory while the insects were under observation and whatever the position of the insect in the cage, the egg was simply dropped, never deposited on a leaf or any selected surface. Sometimes

the egg was dropped from a height that caused it to rebound from the bottom of the cage. These observations were confirmed in the field, where in three cases the insect was observed to drop her egg from the top of a blade of grass two feet high allowing it to fall to the sod below.

In the laboratory we isolated mature females, some of them while mating, keeping a record of the number of eggs they subsequently deposited, in order to determine approximately the number deposited by each individual daily during a definite period. In this experiment we isolated fourteen individuals and the records show that in the majority of cases an individual deposits from 1 to 3 eggs within twentyfour hours, though in two cases 8 eggs were deposited in one day, in two cases 6 eggs, and in three cases 5 eggs. Within a period of six days one individual deposited 23 eggs, another 18 eggs, two deposited 15 eggs and one 13 eggs. The other individuals were below this average.

Eggs laid in the summer and fallen do not hatch out until the following spring. We obtained our first catch of these young bugs in May 1910. The very young larval stages were found and identified by Mr. Bueno, and from that date we were able to secure successive stages in their development from probably the 2nd moult until maturity.

Ovaries of insects have been studied for nearly a century and at intervals they have given rise to much discussion as to the origin of their various cell elements and the relation of these elements to the germ cells. A brief historical sketch of the observations and conclusions of the investigators of the insect ovary is given in Henneguy's very valuable monograph, "Les Insectes". In 1886 Korschelt published a detailed account of the results of his own investigation of a number of forms and compared his conclusions with those of earlier investigators, his work being directed principally to determining the relation existing between the nourishing cells, the epithelial cells and the germ cells. His results presented evidence in support of his criticism of Will's conclusion as to the relation these elements hold to one another.

Will (1885) drew his conclusions from the study of two Hemiptera, *Notonecta* and *Nepa*. Korschelt also investigated these same forms, and we shall at first limit our comparison of Korschelt's results to his observations on these two Hemiptera and determine if possible, what facts observed by both investigators agree with those we shall try to demonstrate in *Protenor*.

Before attempting a comparison of the cytological details, we will briefly describe that portion of the ovary of *Protenor* in which we find

most clearly demonstrated the three forms of nuclei which have given rise to so much discussion — the food cells ("Nährzellen"), the epithelial cells and the germ cells.

Figs. 1 and 2 are drawings of a longitudinal section of the terminal-chamber (Endkammer) of one of the seven tubes of a mature ovary. The ovaries were removed from a living specimen, captured while mating, and both ovaries showed the same external characters. There were no chitinous (brown) eggs in any of the tubes, each tube having developed only a single egg chamber which contained a nonchitinous (bluish) egg.

Ovaries removed from individuals during the period in which they are depositing eggs show a further development of the egg chambers. At this time several of these chambers are present showing a graded series of development, the eggs in the chambers at the posterior end of the tubes being as hard and chitinous as those just deposited and having nearly the same mahogany brown color. The younger eggs are white with a bluish tinge, the blue changing to a clear sky blue, then becoming yellow and gradually deepening to brown. As a rule the eggs are brown or dark yellow when deposited.

Figs. 1 and 2 demonstrate that the terminal chambers of *Protenor* are differentiated into three quite distinct zones. For the sake of convenience we shall designate these zones, A, B and C and each zone has distinctive features which are easily recognized. Zone A is at the apex of the terminal chamber and includes about $^1/_6$ of its entire area. The most obvious features which differentiate this zone from zone B are the relatively small size of the nuclei and the weaker response of this area to the chromatin stains. These two characteristics are further demonstrated in photos 1 und 2.

The most obvious features characterizing zone B are the large nuclei, showing great variation in form and structure and an intense tenacity of the chromatin stains. Figs. 1 and 2, plate XII and photos 1 and 2 plate XIII.

Zone C is characterized by features somewhat similar to zone A, the nuclei are smaller, the entire zone representing a definite area which stains more faintly than zone B.

These areas, dividing the terminal chamber into three distinct zones, have been found to be characteristic of the ovary of many insects. Preusse (1895) supports Will's and Korschelt's observations on this point and describes these areas in *Nepa* as follows: "Das Innere der Endkammer wird von drei Zellbezirken eingenommen. Den hinteren Teil bildet das bereits abgehandelte Keimlager, daran schließt sich der

Komplex der Nährzellen, welche nach vorn kleiner und kleiner werden. Am Gipfel endlich findet sich eine größere Menge gleichartiger Kerne." p. 336.

In common with earlier writers Will and Korschelt recognize a further differentiation of the terminal chamber. They find an area free from nuclei running through the middle of the terminal chamber, this area frequently extending throughout the entire region where the large nuclei are found (Zone B). Korschelt (fig. 85) shows this space in *Nepa cinerea* and he describes it as follows — p. 629. "Es findet sich nämlich hier im Centrum der Endkammer ebenfalls ein von großen Kernen ziemlich freier plasmatischer Raum, wie dies aus Will's Fig. 3 ersichtlich ist. Der freie Raum zeigt eine verschiedene Ausdehnung. Am Grund der Endkammer ist er oftmals von so bedeutendem Umfang, daß hier nur wenige Lagen großer Kerne an der Wand erhalten sind. So ist es auch in der von Will gegebenen Figur der Fall. In dieser Gegend erreichen übrigens die Kerne ihren größten Umfang. Nach oben zu wird der plasmatische Raum schmäler und sendet oftmals mehrere Ausläufer in die Masse der am oberen Ende der Endkammer gelegenen Kerne hinein, so daß er sich zuweilen ziemlich bis an den Gipfel der letzteren erstreckt" (Fig. 85).

Korschelt believes that the "plasmatische Raum" represents the products of disintegration of the large nuclei of zone B and that this disintegration may be due to the action of the egg cells on the large nuclei. He states these conclusions most clearly for *Notonecta*. "Man kann sich vorstellen, daß die am Grunde der Endkammer gelegenen Eizellen auf die ihnen benachbarten Zellenelemente, welche ja allem Anschein nach die Funktion von Nährzellen haben, eine Wirkung ausüben, infolge deren sich diese zersetzen. Dadurch entsteht aber der plasmatische Raum, dessen Inhalt den jungen Eizellen als Nahrung dient. Die zersetzende Wirkung der Eizellen überträgt sich durch das Plasma des freien Raumes auf die denselben umgebenden Kerne, die sich ebenfalls auflösen, wodurch der Umfang des freien Raumes mehr und mehr wächst. Die Eizellen aber, welche nicht mehr direkt in der Umgebung des plasmatischen Raumes liegen und so aus seinem Inhalt Nutzen ziehen können, bleiben doch durch Plasmafortsätze (Dotter- oder Verbindungsstränge) mit ihm in stetem Zusammenhang[1]). Diese führen dem Ei Nährmaterial aus der Endkammer zu, sie werden aber auch die zersetzende Wirkung der Eizelle auf das Plasma des freien Raumes übertragen und in diesem

[1]) Eine sehr genaue Beschreibung dieser Verbindungsstränge und ihres Verlaufes in der Eiröhre gibt Will (Nr. 45, S. 342).

wird sich somit die Kraft aller Eizellen konzentrieren, die mit dem freien Raum verbunden sind. Diese Kraft aber äußert sich durch die Zersetzung der umliegenden großen Kerne« p. 614.

This plasma space which has been called a "canal" or "duct" by earlier writers, can be clearly demonstrated in *Protenor* and it can be shown that in mature ovaries it is in direct connection with the young eggs (fig. 1, plate XII).

Earlier writers observed this "canal" in the ovaries of many insects and interpreted it as a means of conveying nutritive substance, "yelk matter" to the growing egg, this substance being secreted by the large cells of the terminal chamber.

In 1859 Lubbock wrote, "Professor Huxley has observed in *Aphis* and I have noticed in certain Hemiptera that a tube or channel leads down from the terminal chamber into the second and third egg chambers, which seems evidently intended to convey yelk-matter to the developing eggs", p. 348. He thinks there can be "no doubt that it is really a duct through which the yelk-substance descends to the growing egg". The cells of the terminal chamber which secrete the yelk-substance have been called Vitelligenous cells and Stein, Huxley, Leuckart and Lubbock all agree that they secrete the "yelk-matter" which is conveyed by the "canal" to the growing egg.

Fig. 1 and photos 3 and 4 demonstrate that *Protenor* supports the observations and conclusions of these earlier investigators. There are several features which seem to indicate that the large nuclei of zone B secrete a substance which is conveyed directly to the growing egg, through a canal-like space and this canal is later in direct connection with the youngest egg chambers. We have found it most conspicuous in those ovarian tubes in which the young egg chambers are forming (fig. 1 and photo 3). In successive earlier stages its presence is less and less evident. In longitudinal sections of entire tubes of ovaries from young individuals, before the last moult, the egg chambers are still undeveloped though young germinal vesicles are to be found in zone C.

In the immature ovaries in which a definite "canal" is not evident, delicate canal-like spaces are present in zone B, similar to those seen in the mature terminal chambers, and which in these later stages lead into the central canal. Such spaces are demonstrated in the mature terminal chambers of fig. 2 and photo 1, and adjacent sections of this terminal chamber show that these delicate canal-like spaces lead into a central "canal" fully as pronounced as the one shown in figure 1. Photo 3 shows a part of one of the adjacent sections in which the "canal" is

present. The connection between the "canal" and the young egg is finally closed by the growth of the epithelial cells and the egg chamber is then complete. The first steps in this process are shown in photo 4. Most authors agree that at least part of the yolk of the growing egg is derived from the epithelial (follicle) cells, either indirectly (as a secretion of these cells) or by their disintegration and direct migration into the egg. Thus the function of the epithelial cells would seem to be the same as the large nuclei of zone B, both contributing a nutritive substance to the growing oöcyte. In this connection it is significant that the epithelial cells which form the walls of the egg chamber, and the large nuclei of zone B are strikingly similar in character.

It is difficult to determine whether the nutritive substance in the canal is due to actual disintegration of the large nuclei of zone B, according to Korschelt, or whether these large nuclei secrete nutritive substance for the egg, as determined by Stein, Huxley, Leuckart and Lubbock but there are facts in *Protenor* which indicate that these nuclei produce this nutritive substance by secretion rather than by disintegration.

If the latter were the case we would expect to find some difference between those nuclei in contact with the canal and those that are furthest removed from it, for presumably the nuclei in contact with the canal would show more active stages of disintegration. On the contrary figs. 1 and 2 and photos 1 and 2 demonstrate a striking similarity of all the nuclei throughout the entire zone B. They vary in size, it is true, owing to frequent division by amitosis, but the general character of these cells is the same throughout this entire zone, and the zone itself stains so intensely that one is inevitably led to the conclusion that this is due to some substance given off by the nuclei, or perhaps to a product of both nucleus and cytoplasm. In any case, all the cells of zone B have the same definite characteristic features, and further the delicate extensions from the main "canal" which ramify throughout this zone suggest that they may function to convey the products of secretion from all parts of this zone to the "canal" which feeds directly the growing egg — fig. 1. There is evidence that these large nuclei sometimes disintegrate and perhaps degenerate in the "canal" before it reaches zone C, but it is impossible to determine whether these are cases of actual degeneration or a precocious fragmentation of these nuclei, which we believe normally occurs in zone C.

The observations of Will and Korschelt agree as to certain facts they have demonstrated in the ovaries of *Nepa* and *Notonecta*, but they

do not agree in their interpretation of these facts. We believe that a comparison of their observations on these two forms with certain facts that can be demonstrated in *Protenor* may throw some light on obscure points and aid in their interpretation.

Without attempting for a moment to pass judgment on the opposing interpretations of these two investigators, we believe that the evidence in *Protenor* is in accord with Will's interpretation of some of the facts, and this evidence in *Protenor* can be clearly demonstrated by a series of photographs. The observations of Will and Korschelt agree as to the following facts. In the anterior area (zone A) of the terminal chamber of both *Notonecta* and *Nepa* there are small nuclei imbedded in a common protoplasmic mass, cell boundaries being rarely seen. These nuclei increase greatly in size and finally occupy a definite position in the terminal chamber (Zone B, figs. 1 and 2 and photos 1 and 2). Suddenly at the base of the terminal chamber we again find an accumulation of small nuclei (zone C, figs. 1 and 2 and photos 1 and 2). Both investigators agree as to these facts and they further agree that at this point the large nuclei, as such, disappear, they break up into small fragments. Both investigators find in this area (zone C) many small nuclei, but they disagree as to their origin. Will claiming they owe their origin to the large nuclei, whereas Korschelt believes they are a continuation of small nuclei which are in the anterior area of the terminal chamber (zone A) and have no connection with the products of disintegration of the large nuclei.

Korschelt interprets the large nuclei of zone B as purely nourishing cells ("Nährzellen") which in the lower zone (zone C) degenerate, disintegrate and disappear. Will, on the contrary, interprets these large nuclei (zone B) as oöblasts and claims that they give rise to many small nuclei which become differentiated into epithelial cells and egg cells. Whether the large nuclei fragment or whether their nuclear contents simply flow out, or again, whether the process differs for the epithelial nuclei and for the germinal vesicles are details which have no essential bearing on the main fact we shall aim to demonstrate — namely, that the disintegration of the large nuclei gives rise to many smaller nuclei — these nuclei representing the accumulation of small nuclei that both Will and Korschelt have demonstrated in zone C, and which they both interpret as giving rise to epithelial and egg cells. The important point of divergence between these two investigators is the question whether the disintegration products of the large nuclei of zone B are purely "nourishing material", according to Korschelt, or whether they also

form nuclei which according to Will subsequently function as germ cells. In the case of *Notonecta*, Korschelt clearly states their opposing interpretations as follows p. 626: »Die Entstehung und Bedeutung der Zellenelemente des Ovariums stellt sich nunmehr in folgender Weise dar: Die gleichen Kerne wie im Endfaden finden sich auch am Gipfel der Endkammer. Hier wandelt sich der größere Teil von ihnen um zu den großen Kernen der Endkammer, den Willschen Ooblasten. Diese haben aber nicht, wie Will glaubt, das Epithel zu bilden und später die Keimbläschen zu liefern, sondern sie zerfallen einer Rückbildung, indem sie sich in dem plasmatischen Raume der Endkammer auflösen. Dieser Raum aber steht in direkter Verbindung mit den wachsenden Eizellen, welche ihm zweifellos Nährmaterial entnehmen. Die den größten Teil der Endkammer erfüllenden großen Zellenelemente haben daher nur die Bedeutung von Nährzellen. Dotterzellen nennt sie Schneider und als solche wurden sie auch bereits von früheren Autoren angesehen.

Bei der Differenzierung der großen Kerne aus der gleichartigen Kernanhäufung der Endkammer blieb ein geringer Teil der Kerne unverändert. Dieselben finden sich einmal in größerer oder geringerer Anzahl am Gipfel der Endkammer und setzen sich von da unmittelbar unter der Tunica propria liegend durch die ganze Endkammer fort, um an deren Basis in eine große Menge mit ihnen gleichartiger Kerne überzugehen. Aus diesen kleinen Kernen nun, die sich als wandständige Kerne der Endkammer bis in den Endfaden verfolgen lassen, gehen einmal die Keimzellkerne bzw. die Keimbläschen hervor, indem sich eine Anzahl von ihnen bedeutend vergrößert und es entstehen aus ihnen die Kerne der Epithelzellen, wobei keine besonders bemerkenswerte Veränderung mit ihnen vorgeht. Als Epithelkerne darf man erst die der eigentlichen Eiröhre bezeichnen, denn aus den am Grunde der Endkammer gelegenen zahlreichen kleinen Kernen können ebensowohl Keimzellkerne wie Epithelkerne hervorgehen. Sie sind daher als noch nicht differenzierte Elemente zu betrachten.«

Korschelt's conclusions are the same for *Nepa*, p. 627: »Die Endkammer von *Nepa* gleicht der von *Notonecta*. Eine anschauliche Abbildung der ganzen Endkammer gibt Will in seiner oft zitierten Arbeit (Fig. 3, Taf. XX). Aus meiner Fig. 84 erkennt man, daß die Kerne des Endfadens ganz direkt übergehen in die der Endkammer« . . . p. 633. »Die Entstehung des Epithels braucht also auch hier ebensowenig wie bei *Notonecta* auf die Tätigkeit der »Ooblasten« (Will's) zurückgeführt zu werden, ganz abgesehen davon, daß sich Bilder, welche für eine solche Bildung des Epithels sprechen würden, nicht auffinden

ließen, wie ich oben ausführte. Wie nun aber die Anhäufung der vielen kleinen Kerne am Grunde der Endkammer entstanden ist, ob sie durch Teilung aus wenigen Kernen hervorgingen oder ob bei der Differenzierung der Endkammerelemente, wie am Gipfel derselben auch an ihrem Grunde eine größere Anzahl gleichartiger, indifferenter Kerne zurückblieb, welche den übrigen den Ursprung gab, ist schwer zu sagen und es dürfte sich diese Frage nur auf dem Wege der entwicklungsgeschichtlichen Untersuchung lösen lassen.« . . . p. 635. »Resultate: Die gleichartigen Kerne an dem Gipfel der Endkammer, welche mit denen des Endfadens identisch sind, wandeln sich einmal um in die großen, den größten Teil der Endkammer erfüllenden Kerne. Diese gehen in dem centralen plasmatischen Raum einer Auflösung entgegen, dieser aber führt den Eizellen Nährmaterial zu. Der größte Teil der Elemente der Endkammer hat somit die Funktion von Nährzellen. Eine Bildung von Epithel in der durch Will angegebenen Weise findet bei *Nepa* nicht statt. — Ein geringerer Teil der gleichartigen Kerne am Gipfel bleibt in geringerer Menge central zwischen den großen Kernen in ihrer ursprünglichen Beschaffenheit erhalten, eine größere Menge setzt sich als kontinuierliche Lage wandständiger Kerne von der Spitze der Endkammer bis zu deren Basis fort, wo sie sich in die hier befindliche Anhäufung kleiner Kerne verliert. Aus letzteren gehen durch Wachstum und Differenzierung eines distinkten Plasmahofes in ihrer Umgebung die Keimzellen hervor.«

These conclusions Korschelt extends to other Hemiptera, though he finds in all the forms he studied some evidence in support of Will's interpretation of the origin of the small nuclei of zone C. Of *Reduvius personatus* he says: »Ich muß hier einer eigentümlichen Erscheinung gedenken, die ich bei *Reduvius* im unteren Teil der Endkammer wahrnahm und die ich in der Fig. 116 möglichst getreu wiedergegeben habe. Da, wo die Schicht der großen Kerne an den plasmatischen Raum (*Pl*) angrenzt, fand ich eine Gruppe kleiner Kerne, von der ich mir nicht zu erklären vermochte, wie sie in diese Gegend zu liegen kommen konnte. Ich mußte deshalb sofort an die Darstellungen Will's denken und ich gestehe, daß es hier nach dem Präparat ganz den Eindruck macht, als wären einige der großen Kerne zusammengeflossen und hätten direkt aus sich die kleinen Kerne hervorgehen lassen. Man erhält besonders deshalb diesen Eindruck, weil man sich die isolierte Lage dieser Gruppe kleiner Kerne nicht recht erklären kann und weil die kleinen Kerne außerdem von einer körnigen Substanz umgeben sind, welche mehr an die der Kerne als an das umgebende Plasma erinnert« p. 652. Korschelt finds also in *Pyrrhocoris apterus* some evidence in support of

Will's conclusions, p. 645: »Die in den Kernen enthaltenen größeren Chromatinpartikel machen zwar leicht den Eindruck, als seien sie die bereits vorgebildeten Kernkörper und als zerfiele der betreffende Kern später in eine Anzahl kleiner Kerne, besonders erscheinen die inmitten des freien Raumes gelegenen und in teilweiser Zersetzung begriffenen Kerne so. Die Fig. 107 stellt einige solcher Kerne dar. Nach dem Präparat konnte man leicht glauben, daß der betreffende Kern im Begriff sei in eine Anzahl kleiner Kerne zu zerfallen.«

In *Ranatra linearis* Korschelt finds still more support for Will's conclusions, p. 637: »*Ranatra* ist von allen Formen, welche mir zur Untersuchung vorlagen, diejenige, bei welcher man am leichtesten darüber zweifelhaft werden kann, ob das Epithel durch allmähliche Differenzierung aus den indifferenten Elementen hervorgeht, oder ob nicht vielmehr die von Will aufgestellte Theorie der Epithelbildung für sie Gültigkeit hat. Im unteren Teil der Endkammer nämlich, wo sich der freie Raum und in seiner Umgebung die Anhäufung kleiner Kerne findet, liegen die kleinen und großen Kerne bunt durcheinander und infolge der eigenartigen Struktur der letzteren, die mit Chromatinpartikeln ungefähr von der Größe der kleinen Kerne erfüllt sind, gewinnt es leicht den Anschein, als wenn diese einfach durch Auflösen der großen Kerne und Freiwerden ihrer Chromatinpartikel entstanden seien. Hätte Will dieses Objekt untersucht, so würde er gewiß noch weit überzeugendere Bilder haben vorbringen können, als es die von *Nepa* und *Notonecta* sind; trotzdem kann ich mich nach höchst gewissenhafter Untersuchung auch bei *Ranatra* nicht von der Existenz der Vorgänge überzeugen, wie sie Will für die Bildung des Epithels annimmt« . . . p. 641: »Immerhin aber ist es bei den geschilderten Verhältnissen kaum möglich, mit absoluter Sicherheit zu sagen, die kleinen Kerne entstammen nicht den großen; im Hinblick darauf erwähnte ich auch oben, daß *Ranatra* diejenige Form sei, bei welcher man am ehesten an das Vorhandensein der von Will beschriebenen Vorgänge denken könnte.«

It will be seen from the above quotations that Korschelt finds some evidence in support of Will's conclusion that the large nuclei of zone B give rise to the small nuclei of zone C, although he believes that the weight of evidence is in favor of his own conclusions that these small nuclei are a continuation of the small "indifferent" nuclei that are found in zone A and in the Endfaden.

As evidence for this conclusion Korschelt finds in the forms he studied that the nuclei of the two zones A and C are morphologically alike and further, that they can be traced uninterruptedly through the entire

zone B. In some forms he finds them between the large nuclei of zone B and in other forms on the periphery only. In *Protenor* it can be demonstrated that the small nuclei of zones A and C are astonishingly alike and to this extent *Protenor* supports KORSCHELT's observations, but we find no evidence that the small nuclei of these two zones are continuous throughout zone B, therefore in this essential point *Protenor* fails to support KORSCHELT's interpretations. On the other hand the evidence *Protenor* offers in support of WILL's interpretation is more conclusive.

It can be demonstrated that the large nuclei of zone B may fragment into a number of smaller pieces of varying sizes, and that these pieces may continue their development as independent nuclei, or again these large nuclear masses may appear sometimes as a single nucleus (photos 5—14), or may form a syncytium of small nuclei which are later set free — all these facts supporting WILL's observations on this point. The fragmentation of a large nucleus into smaller pieces is shown in photo 25. The evidence indicates that nuclear fragments may develop as single nuclei without regard to their relative size, the larger pieces developing without further fragmentation, this fact perhaps offering one explanation why we find so many nuclei showing the same stage of development and yet differing so markedly in size.

In the upper left corner of photo 25 is a large nuclear fragment which we believe is similar to the one shown in the right of photo 30 and in photo 31. Stages in the further development of such large nuclear fragments are shown in photos 26 and 27. Photo 32 demonstrates two smaller nuclear fragments showing the same stage of development as the larger pieces of photos 25, 30, and 31. Later stages of development are shown in photos 27 and 29. We believe these photos show in detail the phenomenon that WILL found to occur at the base of zone B in the forms he studied. Although in *Protenor* it can be demonstrated that small nuclei may originate by fragmentation of large nuclei, we would by no means claim that all the nuclei of zone C have a like origin, for there is too much evidence of mitosis in this zone to warrant any such assumption, though the cases of mitosis are relatively rare.

The rare cases of mitosis as compared to amitosis have been demonstrated by PREUSSE (1895) in the ovaries of the forms studied by him. He questions amitoses being an evidence of degeneration of the cell and he believes in its functional significance. GROSS (1905) also finds both methods of division side by side in the ovaries of the insects he studied.

That the features characteristic of amitosis are more or less obvious

is shown by the amount of attention this method of division has received from earlier investigators.

Walker (1906) states that "amitosis occurs as one of the earliest known phenomenon in the production of spermatozoa in some animals if not in all" (p. 56).

In Flemming's (1892) historical sketch of amitosis he gives a list of the many investigators who have demonstrated direct division in the following cells, lymph cells, epithelial cells, gland cells, connective tissue cells, muscle cells, and germ cells, both in spermatogenesis and in oögenesis.

Wheeler (1889) demonstrated amitosis in the follicle cells of *Blatta germanica* and described it as follows: "In eggs taken from the ovaries just before maturity, when the epithelial is firmly attached to the underlying chorion almost all of the nuclei will be found rapidly dividing . . . but no trace of an achromatic spindle or of a regular arrangement of the nuclear filament, so characteristic of karyokinesis could be observed. I therefore conclude that we have here a case of akinesis or direct division. This conclusion is further strengthened by the observation that the nucleolus divides first . . . Moreover, the two daughter nuclei are frequently very unequal in size" p. 296—297.

For a decade or more mitosis has gained in popularity at the expense of amitosis, the more obvious and attractive features of mitosis offering perhaps a promise of more fruitful results to the investigator, whereas the obscure and doubtful features of amitosis, added to the popular suggestion made by Ziegler and Vom Rath that it is associated with degeneration of the cell, have tended to increase the difficulties of attempting to demonstrate that amitosis may play as important a role in development as mitosis.

Among the exceptions to this attitude towards amitosis are Prof. Child's careful work on Nematodes (1904—1910); Jörgensen's (1908) Study of the Oogenesis of Nephelis, Jordan's (1908) Spermatogenesis of *Oplopus Mayeri*, Glaser's (1908) Study of the Endoderm of *Fasiolaria tulipa* vardistans, Patterson (1908) on the Pigeon's Egg and Moroff's (1909) Oogenetische Studien. I. Copepoden. To these may be added, Knoche's (1910) important observations on the insect ovary, Maximow (1908) on the embryonic tissues of the rabbit and Nowikoff's (1910) demonstration of amitosis in the bone and sinew of the young mouse. Of the latter he says: »Die amitotischen Teilungsfiguren sind in solchen jungen Sehnen sehr zahlreich, so daß man auf einem und demselben Querschnitt alle möglichen Zerschnürungsstadien auffinden kann (Textfig. 2). Die Karyokinesen trifft man dagegen äußerst selten.« . . . »In den meisten,

von mir beobachteten Amitosen sind die beiden Tochterkerne ihrer Größe nach einander mehr oder weniger gleich.«

Nowikoff quotes Godlewsky as follows: »In seinem vor kurzem erschienenen Aufsatze kommt Godlewsky (1909) nach der Betrachtung der Literaturangaben zu dem Ergebnis, daß aus der bisherigen Literatur sich keine einzige Angabe anführen läßt, durch welche ganz positiv bewiesen würde, daß die Amitose der Karyokinese nicht gleichwertig sein könnte (p. 120). Den experimentellen Forschungen von Nathanson und andern, welche einen Einfluß der äußeren Faktoren auf die Form der Kernteilung beweisen, schreibt Godlewsky ebenfalls eine bedeutende Rolle zu. Aus diesen Forschungen geht nämlich hervor, daß die durch direkte Teilung entstandenen Kerne die Fähigkeit der karyokinetischen Teilungen nicht einbüßen« p. 367.

Regaud (1910) claims the indisputable presence of amitosis in the spermatogenesis of the rat, differing with Duesberg on this point. — He says. «Duesberg (1908, p. 405), avec qui je me trouve en désaccord sur un certain nombre de points très importants de l'histoire des spermatogonies, nie formellement l'existence des amitoses de ces cellules et cela pour deux raisons: il ne les a jamais rencontrées, et il est contraire aux principes régnant actuellement en biologie d'admettre leur existence. Pour ce dernier argument j'avoue n'avoir absolument aucune considération. Mais le premier mérite d'autant plus d'être examiné que l'auteur est certainement un bon observateur.

Les amitoses des spermatogonies sont un fait très gros, et optiquement beaucoup plus facile à voir qu'une foule de détails de structure cytologique actuellement incontestés. Seulement ce fait très gros ne se produit qu'à un moment très court du cycle spermatogénique, à la fin du stade 7 et tout au début du stade 8 de ma nomenclature. Il faut donc, pour le voir, commencer par se familiariser avec les stades de la spermatogénèse. Les stades en question sont faciles à reconnaître dans les coupes d'épithélium séminal perpendiculaires à la membrane du tube; mais les figures d'amitose ne sont indiscutables que lorsqu'elles sont vues dans la couche génératrice à plat. Il faut donc examiner des sections soustangentielles de tubes séminaux, aux stades 7 (fin) et 8 (début): c'est précisément cela qui exige beaucoup de temps et de patience, à cause de la nécessité de déterminer le stade des sections sous-tangentielles par l'examen des coupes en séries. Duesberg n'a pas trouvé les amitoses parce qu'il ne s'est pas placé dans les conditions nécessaires, que je viens d'indiquer. La lecture de ses travaux relatifs à l'épithélium séminal du Rat ne montre pas qu'il ait pris en

particulière considération la chronologie de la spermatogénèse, autrement que pour sérier les unes par rapport aux autres les images relatives aux spermatocytes et aux spermies: c'est absolument insuffisant pour l'étude des spermatogonies.

Les amitoses des spermatogonies existent indiscutablement, et elles sont intercalées dans l'arbre généalogique des cellules spermatiques. Ce qui est incertain, c'est la place exacte qu'elles occupent dans cet arbre généalogique: représent-elles la division nodale? sont elles intercalées, avant celle-ci dans la couche? sont-elles intercalées, après la division nodale, dans la lignée spermatique latérale?» Page 419.

All the above mentioned investigators claim that mitosis may follow amitosis and that amitosis plays an important rôle in cell development. KNOCHE's conclusions are as follows: »Bei den von mir untersuchten Borkenkäfern, vor allem bei *H. piniperda* entsteht vielleicht überhaupt kaum ein Ei, das nicht aus mindestens einmal amitotisch geteilten Keimzellen hervorgegangen ist. Eine weitere große Rolle spielt die Amitose im Ovarium der Borkenkäfer bei der Regeneration des Ovariums nach Ablauf der ersten bzw. zweiten Brut.

Ganz ähnlich verhält es sich wahrscheinlich im Wanzenovarium. Das eine kann ich jetzt schon sicher sagen, daß auch in ihm zum mindestens ein Teil der Eier aus amitotisch geteilten Zellen hervorgeht.«

We believe that amitosis can be demonstrated in the ovary of *Protenor* and in this form the demonstration is facilitated by the fact that the successive stages of development of the two large chromosomes can be followed uninterruptedly and that their development is associated with certain characteristic features.

In *Protenor* the development of the two large chromosomes so conspicuous in the chromosome groups of the female, can be demonstrated in the cells from the ovaries of the larval stages, as well as in cells of the terminal chambers of mature ovaries. It can be shown that the process of differentiation of these two chromosomes is quite different from that of the smaller chromosomes, that while the smaller chromosomes arise from a typical reticulum, the two large chromosomes are frequently evolved from a large chromatin nucleolus closely resembling the chromatin nucleolus of the spermatocytes. In brief, the method of development, as a rule, is as follows: The first step in the formation of a group of chromosomes, is the segregation of a part of the chromatin into a single quite typical nucleolus (plate XVII, photos 44, 45, 46 and 47). As development progresses, the nucleolus retains its

form, while the surrounding chromatin becomes differentiated into a reticulum.

Stages of the differentiation of the reticulum are seen in plate XVII, photos 45—54, and further demonstration of these stages is given in plate XVI, photos 26 and 27 and photos 29, 33 and 34. That the chromosomes arise from this reticulum is shown in plate XVI, photos 27, 29, 33, 34 and 35, also in plate XVI, photos 52—55. The largest two chromosomes of the female group of fourteen are, as a rule, derived from the nucleolus though we have some preparations in which all the chromosomes appear to arise from a reticulum or spireme, but in such cases no chromatin nucleolus is present.

The differentiation of a part of the chromatin into a nucleolus which later gives rise to the two large chromosomes, is a factor that aids us in determining that the contents of the large nuclei of zone B may frequently become differentiated into a number of smaller nuclei without any evidence of mitosis, for it can be shown that part of the chromatin of these large nuclei segregates into a number of nucleoli and that from each of these nucleoli may arise the two large chromosomes of the female group. The facts indicate that at least part of the chromatin of the nucleolus contributes to the formation of the two large chromosomes, for the transitional stages in the differentiation of the chromatin of the nucleolus into these chromosomes can be found, and it is an interesting fact that the forms assumed during these stages closely resemble the forms assumed by the chromatin nucleolus of the spermatocytes.

The nucleolus of photo 26, plate XVI is a single typical nucleolus. In photo 27 such a nucleolus is evidently breaking down and contributing to the chromatin threads. In the largest nucleus of photo 29, a nucleolus is again seen to be breaking down and forming part of the chromatin spireme. In the larger nucleus of photo 30 the chromatin nucleolus has evidently given rise to the two dense chromosomes, and photos 31 and 32 show what appears to be earlier stages of the same process. In photo 33 the chromatin nucleolus has evidently given rise to the single long dense chromatin thread which is probably a prophase of the two large chromosomes. These conditions are further demonstrated in plate XVII, each of the three nuclei of photo 44 has quite a typical nucleolus, and the same relation existing between nucleus and nucleolus is shown in photos 45—47. The variability in form which is characteristic of nucleoli in general is shown in many of the photos. In photo 46 one of the nuclei has a double nucleolus and in one of the nuclei of photo 53 there are two nucleoli nearly equal in size. Again in one of the nuclei of photo 47 there are

two nucleoli very unequal in size and this condition is again seen in photos 52 and 54, and in plate XVII, photos 33 and 34. In most of the nuclei of photo 48, plate XVII, the nucleolus as such has disappeared and has evidently given rise to the single large, dense chromosome seen in some of these nuclei. This stage is further demonstrated in photos 49 and 50, and photo 56 gives almost a complete demonstration of the origin of a chromatin thread from the nucleolus of the earlier stage. In the left nucleus of this photo the nucleolus is still intact, whereas in the right nucleus it is breaking down and at least contributing to the formation of the dense chromatin thread, from which we believe the two large chromosomes are formed. Photo 57 shows a group of female chromosomes in which the two largest chromosomes are clearly demonstrated. If the above described photographs demonstrate that the first step in the formation of a group of chromosomes is the segregation of part of the diffused chromatin into a chromatin nucleolus, we are perhaps justified in interpreting similar nucleoli, wherever found, as indicating the first differentiation of a nucleus in which will develop later the chromatic reticulum or spireme, characteristic of the more mature nucleus.

With this in view it is interesting to note that in many of the large nuclei of zone B, the only differentiation we find is a number of nucleoli and further we find consecutive stages in the development of such nuclear masses, culminating in a syncytium of nuclei, each with its nucleolus. These certainly appear to be merely a further development of those early stages in which the presence of nucleoli is the sole indication that individual nuclei are being formed. Three cells from such a syncytium are shown in plate XVII, photo 44, and photos 45, 46, 47 and 48 are later stages from similar groups of nuclei, in which cell walls are rarely seen.

The evidence in *Protenor* supports Will's conclusion that the large nuclei at the base of zone B either fragment into smaller pieces, which later become differentiated into individual nuclei (plate XVI, photo 25) or that the smaller nuclei develop further before being set free. That the later stages demonstrate that the two large chromosomes may be evolved from the nucleolus of the earlier stage, justifies us in interpreting the multiple nucleoli often found in the large nuclei as evidence that such nuclear masses may give rise to a number of small nuclei without the aid of mitosis.

We by no means wish to imply that all the large nuclei of zone B give rise to small nuclei, on the contrary, they frequently behave as a single nucleus and in such cases they may contain a single nucleolus (plate XIV, photos 5 and 6). They may also give rise to a single group

of very large chromosomes either in the reduced number, (plate XV, photo 12) or the somatic number (plate XV, photos 13 and 14). Typical spireme prophases are also found (plate XIV, photos 9 and 10, and plate XV, photo 11), though we have no satisfactory evidence of the mitotic division of such groups of very large chromosomes. But the fact that such typical metaphase groups are found would seem to offer sufficient evidence that these nuclei may sometimes divide by mitosis as well as amitosis. Preusse (1905) records one case of mitosis among these cells and both Giardina 1901 and Günthert (1910) demonstrate mitotic division of Nährzellen.

If the presence of mitosis among these cells can be questioned, no such doubt exists as to amitosis, for it is impossible to ignore its frequent occurrence, not only can fragmentation of these cells be demonstrated but they may also show the typical amitotic division so frequently described for other forms. The nucleolus frequently divides first though this is by no means constant. Photos 5 and 6, plate XIV, show two large nuclei with the nucleolus still undivided. Photo 19, plate XV is a cell with the nucleolar mass divided and the nucleus showing the first indication of elongation and constriction. Photo 20 shows a further constriction of the nucleus. Photos 7 and 8, plate XIV show two of the large nuclei with division almost completed. Photos 20—24, plate XV give some indication of the great variability shown by these nuclei in their method of division. We would call attention to the fact that in all these cases a portion of the chromatin is segregated either into a nucleolar-like mass (photos 5, 6, 7 and 8, plate XIV, photos 19, 22 and 23, plate XV) or the segregating chromatin may form a spireme (photos 9 and 10, plate XIV, photos 11, 21 and 24, plate XV). It would seem that apparently the same substance may in one case form a nucleolus and in another may be transformed directly into a spireme and chromosomes, and this would seem to question the view that the substance which forms the chromosomes and nucleolus is fundamentally different, it suggests rather that the evidence given by mere morphological differences does not offer a trustworthy clue to fundamental causes.

Chromatin Nucleolus.

Montgomery (1901) was the first to demonstrate the chromatin nucleolus in the spermatogenesis of *Protenor*. It is the "X-element" of his earlier papers and he describes it as follows: "This element has a remarkable history in the growth period. Through the whole growth

period it acts like a chromatin nucleolus in preserving a compact form and in continuing to take the saffranin stain with the use of the double stain of HERMANN, while the other chromosomes take the violet stain" p. 178. In his figure 128 he clearly demonstrates a transverse constriction of the chromatin nucleolus (X-element) which he describes as "A single annular constriction or a clear connecting bridge of linin." He adds, "This transverse constriction pointing to a bipartite nature would show that the chromosome X is bivalent."

As several investigators are convinced that the chromatin nucleolus represents something more than a persisting chromosome any evidence that points to its duplex nature is not without interest. We have therefore photographed some of our preparations which demonstrate the bipartite form of this structure and we can support MONTGOMERY's observations on this point.

The constriction is clearly shown in plate XVI, photos 40 and 41 (upper nucleus) and in photo 42 (more distinctly in the upper nucleus).

In this paper we have nothing new to add to the accounts already given of the spermatogenesis of this form. We have reproduced only a few of our photographs of the male cells in order to compare the chromatin nucleolus in the spermatocytes with the chromatin nucleolus we have been able to demonstrate in the ovarian cells.

Recently a few investigators have claimed that in the oögenesis of certain forms a chromatin nucleolus is present which they homologize to the chromatin nucleolus in the spermatogenesis of insects.

GUTHERZ (1906) figures a young oöcycte of *Pyrrhocoris* (fig. 12) in which he demonstrates a true nucleolus as well as a chromatin nucleolus, homologizing the latter to the chromatin nucleolus of the spermatocytes. »Im Synapsisstadium sowohl des Spermio- als des Oocyten ist ein Chromatinnucleolus vorhanden.«

WILSON (1906) concludes that in the forms he has examined no chromatin nucleolus is present in the oöcytes at the period prior to the stages in which "the chromosomes spread through the nuclear cavity, become looser in texture and finally give rise to a fine reticular structure", he adds "I can, therefore, only state that no chromosome nucleolus is present in the contraction period of synapsis, or in the early growth period, and even though it be present in the later stage, which I think is very doubtful, a wide difference between the sexes would still exist in respect to the earlier period" pgs. 22—23. WILSON briefly mentions these facts without giving any figures to demonstrate his conclusions.

In 1909 we demonstrated that in later stages of the germinal vesicles

of *Euschistus* (the first prophase stages) no chromatin nucleolus is present, though this is the stage at which it is most conspicuous in the spermatocyte. We demonstrated further that a large achromatic nucleolus is present at these early stages, and these observations were illustrated by a series of photographs.

Gutherz and Buchner have studied the chromatin nucleolus in the oögenesis of *Gryllus*, but they fail to agree in their observations and their conclusions. Buchner (1909) finds a nucleolar-like structure in the oögonia and young oöcytes of *Gryllus*, which he interpretes as the homologue of the accessory chromosome of spermatogenesis and he also homologizes it with the ring of *Dytiscus*. In the division of the oögonia this "accessorische Körper" fails to divide and like the accessory chromosome of spermatocytes is contributed to only one of the sister cells. In the young oöcyte it disintegrates into granules p. 385. Buchner calls special attention to the features which distinguish it from ordinary chromosomes and he is in accord with Goldschmidt as to its "trophische Natur". On page 410 he says, »Übersehauen wir, was uns bekannt geworden ist an Lebensäußerungen des accessorischen Chromosoms, der Diplosome, des accessorischen Körpers im Ovar von *Gryllus* und des Chromatinringes von *Dytiscus*, so können wir sie alle einordnen in eine Linie, die vom hochorganisierten Antosoma zum Chromidialgebilde führt.«

In a more recent work (1910) he calls further attention to its great variability of form and to its morphological and functional relation to the nucleolus. He clearly states this as follows, p. 450: »Die zahlreichen Studien der letzten Jahre über diese Körper aber haben uns erkennen lassen, daß die Variationsbreite ihrer morphologischen Zustände eine überaus große ist. Durch eine vergleichende Betrachtung derselben wurde ich dazu geführt, alle diese Erscheinungen einzuordnen in eine Reihe, die von normalen Chromosomen zu immer weniger hoch organisierten chromatischen Gebilden führt, deren Funktion sich weit entfernt von der gewöhnlich mit dem Begriff des Chromosoms verknüpften und recht nahe kommt der, die wir Nucleolen und ähnlichen Strukturen zuschreiben. Die Eigenschaften des accessorischen Chromosoms im Ovar von *Gryllus* ließen dieses nahe an das Ende dieser Reihe setzen und eine gewisse Verwandtschaft mit den Substanzen des *Dytiscus*-Ringes konstatieren. Wir werden auf diese Eigenschaften noch ausführlicher zu sprechen kommen.

Die Annahme, daß die Substanzen des Heterochromosoms — zunächst im Ovar der Grylliden — und ebenso die des *Dytiscus*-Ringes einen Ersatz für die gewöhnlichen Einucleolen bilden, legte schon die Tatsache besonders nahe, daß die letzteren in beiden Fällen völlig fehlen.«

In this paper Buchner again affirms that in the oögonial division the body in question passes undivided to one of the daughter cells and he differs from Gutherz on this point, p. 458: »Wenn also Gutherz meint, daß auf diese Weise der Körper auf beide Zellen verteilt wird, kann ich in keiner Weise beistimmen. Vielmehr habe ich 1909 beschrieben, daß der Körper ungeteilt in nur eine Tochterzelle gelangt und dies durch Bilder illustriert, die denselben unmittelbar neben einer Tochterplatte oder über nur einem sich rekonstruierenden Tochterkern zeigten.«

Gutherz (1909) takes exception to Buchner's homologizing the "accessorische Körper" to the accessory chromosome of insects and claims that it stands in no relation to the chromosomes, p. 457, »Das Gebilde, das wir in der Oogenese von *Gryllus domesticus* kennen gelernt haben, entfernt sich so stark vom Begriffe eines Chromosoms, daß der Vergleich mit einem solchen schlechterdings ausgeschlossen erscheint.«

. . . p. 575, »Wir gelangen zu dem folgenden Endergebnis. Das Studium der *Gryllus*-Oogenese vermittelt die Kenntnis eines Körpers, den wir nicht ohne weiteres in eine der uns geläufigen Kategorien von Zellbestandteilen einzuordnen vermögen. Jedenfalls ist in ihm kein Chromosom gegeben.«

In view of the lack of agreement in the observations of these two investigators of the "accessorische Körper" in the oögenesis of *Gryllus* it might seem futile to attempt to homologize this structure with the ovarian nucleolus of *Protenor* but as some of Buchner's observations and conclusions are in accord with what we have demonstrated in *Protenor*, it may be of some value to indicate the points the two structures seem to have in common.

Buchner (1909) recognizes the relation this body holds to the nucleolus and the chromosomes and its general morphological resemblance to the accessory chromosome of spermatocytes — two features it has in common with the ovarian nucleolus of *Protenor*. In *Protenor* its morphological resemblance to the chromatin nucleolus of the spermatocytes is most striking — compare the ring chromatin nucleolus of the spermatocytes shown in plate XVI, photo 39 and in the lower nucleus of photo 41 with similar rings in the ovarian nuclei of plate XVI, photo 29 and in one of the nuclei of photo 47, plate XVII. Compare the bipartite nucleolus in the spermatocytes of plate XVII, photos 40, 41 and 42 with the bipartite nucleolus in the lower ovarian nucleus of plate XVII, photo 46 — compare the single chromosome-like structure in the spermatocytes of plate XVI, photos 37 and 38 with the single chromosome-like structure in the ovarian nuclei of plate XVI, photo 33, and plate XVII, photos 48, 49

and 50. Those who are familiar with the chromatin nucleolus figured for the spermatocytes of so many forms must admit that there is a striking resemblance between many of these spermatocyte nucleoli, and those we have demonstrated in several of the ovarian nuclei of our plates XVI and XVII. Again this structure in *Protenor* supports Buchner's observations as to its great variability of form — although most frequently it is a single body this feature is by no means constant either in the ovary or the testis. *Protenor* further supports Buchner's observations as to the presence of the stage demonstrated in our photo 51 — compare this photo with Buchner's (1909) figures 101 and 103 — compare further our photo 44 with Buchner's figure 100.

Winiwarter and Sainmont (1908) made the important discovery that in the ovary of the cat a chromatin nucleolus is present having many features in common with the chromatin nucleolus of insects. It is present not only in the oögonia but also in the oöcytes and what is of special interest it appears as a single body not only before but also during mitosis. In the oögonial divisions it most frequently lags in division but finally divides as a monosome. «Dans la plupart des figures de diaster, on constate un élément resté en arrière, dont la séparation en chromosomes-filles n'est pas encore effectuée» (fig. 17).

Further the chromatin nucleolus shows great variability in form und size, whereas the true nucleolus which is also present at these stages remains less variable, p. 203: «Le nucléole ne varie guère, mais l'autre élément intranucléaire atteint parfois des dimensions colossales, témoin la fig. 27.»

These authors give a brief summary of their observations as follows, p. 234: «Quant à l'autre élément que, jusqu'à présent, nous avons compris dans l'appareil nucléolaire, il offre des caractères très différents du nucléole vrai et une évolution tout à fait spéciale.

Dans les oogonies au repos, on ne le distingue pas; mais lorsque le noyau s'apprête à la mitose, avant même que le spirème ne soit édifié, on le remarque sous la forme d'un corps allongé, divisé le plus souvent suivant sa longueur (fig. 3). Il est toujours coloré en bleu foncé, comme la chromatine. Plus tard, il est moins facile à reconnaître parce que les coupes empêchent de se rendre compte de la grandeur respective des chromosomes. Mais dans la plaque équatoriale, il y a toujours un élément beaucoup plus volumineux que les autres et souvent recourbé en fer-à cheval, alors que les autres chromosomes sont plutôt des bâtonnets courts. On le voit aussi dans les plaques équatoriales de profil (fig. 15). Enfin, on constate dans la majorité des diasters, un élément dont la division

s'achève très tardivement (fig. 17). Dans les stades ultérieurs, il est de nouveau masqué par la condensation des chromosomes; dans le noyau reconstitué et revenant au repos, il réapparaît parfois (fig. 22, cellule supérieure).

Cet élément particulier se retrouve de même dans les oocytes il existe à côté du nucléole vrai, accolé à lui ou isolé, toujours coloré en bleu. Parfois il devient énorme (fig. 27 et 33). Remarque très importante: alors qu'il est simple, parfois à partir du moment où la conjugaison des chromosomes va se produire (fig. 44), en tous cas toujours quand elle a eu lieu et que le gros cordon s'est constitué, cet élément est nettement double; il reste tel dans les stades ultérieurs jusqu'au moment où la dégénérescence est telle que l'on ne puisse plus le distinguer.

Cet élément particulier, qui offre toutes les apparences de la chromatine. qui se conduit à la façon d'un chromosome pendant la division, possède pourtant des propriétés qui le distinguent à première vue de tout le reste. Existe-t-il quelque chose d'approchant ailleurs?

Si nous nous reportons aux nombreuses observations parues ces dernières années chez les insectes, nous citerons surtout les recherches de Montgomery, Mc Clung, Sutton, Wilson, Gross, nous constatons, parmi les chromosomes, des éléments à évolution spéciale. Ils recouraient à une foule de noms divers (nucléole chromatique, chromosome accessoire, hétérochromosome, etc.). Montgomery propose de les réunir sous le nom d'allosomes en opposition avec les autosomes ou chromosomes ordinaires. Les allosomes se distinguent en monosomes, idiochromosomes et microsomes (Wilson). Gutherz les réunit sous le terme d'hétérochromosomes et les divise en mono- et diplosomes.

Gutherz s'est chargé de classer et de coordonner les données nombreuses, mais encore fort embrouillées, à ce sujet. D'après son exposé, il faut reconnaître aux chromosomes particuliers ou hétérochromosomes trois qualités par lesquelles ils suivent une marche différente de celle des autres chromosomes: l'hétéropycnose, l'hétérosyndèse et l'hétérokinèse. En d'autres termes, ces éléments suivent une marche analogue à celle des chromosomes ordinaires, mais non simultanée au point de vue du temps; ils sont formés à un moment où les autres sont encore épars sur le réticulum; ils conjuguent quand l'accolement s'est produit chez les autres, et ainsi de suite.

Il est certain que l'élément particulier du chat répond, à plusieurs égards, à ces exigences: au point de vue hétéropycnose et hétérokinèse, tout au moins pendant la division ovogoniale; nous n'avons pas encore suivi les divisions de maturation. Il ne répond pas à l'hétérosyndèse, attendu

que c'est un élément unique, un monosome, et que son partenaire fait défaut. Quant à la division longitudinale précoce, elle est en rapport aussi avec ce qu'on a constaté chez les hétérochromosomes décrits. . . .

Nous devons avouer que cet élément que nous décrivons pour la première fois chez le chat, offre une singulière ressemblance avec l'hétérochromosome des insectes. Evidemment il faudrait, pour conclure avec certitude, l'avoir suivi pendant la maturation ainsi que pendant les mitoses somatiques. Dans ces dernières, nous avons retrouvé fréquemment un chromosome plus grand que les autres, mais les mitoses sont moins accessibles à l'analyse. Quant aux noyaux somatiques au repos, l'élément y est tout aussi invisible que dans les oogonies (noyaux protobroques).

Quoi qu'il en soit, nous pensons qu'il y a de fortes présomptions en faveur de l'hypothèse qu'un élément, analogue à l'hétérochromosome, existe chez les chats, et peut-être chez tous les mammifères.»

It will be seen that the behavior of the chromatin nucleolus in the ovary of the cat agrees with Buchner's and Gutherz's observations on the ovary of *Gryllus* on one important point. All four authors find the structure behaving as a single body in mitosis though they differ as to its method of division. Buchner finds it passing undivided to one daughter cell whereas Gutherz and Winiwater and Sainmont find it is divided equally between the daughter cells, though the last two authors find it most frequently lagging in division.

We have never found this body appearing as a chromatin nucleolus during mitosis. On the contrary, we find evidence that the two large chromosomes are evolved from the chromatin nucleolus. This is shown in photo 56 and the evidence in detail is given on page 000. This would indicate that the chromatin nucleolus in the ovary of *Protenor* does not persist as such through mitosis and therefore does not divide as a single body. But on the other hand we find pseudo-reduced groups of chromosomes not only in zone C of the terminal chamber but in zones B and A and in these cases the large chromosomes would presumably divide as a single body.

We have however been unable to discover any evidence of the differential mitoses described by Giardina in *Dytiscus* (1901) and supported by Debaisieux (1909) and Günthert (1910). The ring of *Dytiscus* which these four differential mitoses finally consign to one cell in a group of sixteen has little in common with the ovarian nucleolus of *Protenor*. Their morphological dissimilarity is evident if we compare the ring figured by these three authors with our photographs of the chromatin nucleolus in plates XIV—XVII.

In the amitotic division of *Protenor* the large nucleus may constrict off smaller pieces, the larger amount of nucleolar chromatin being retained in the original nucleus (photo 25) but the smaller cells also have each a portion of the same chromatic substance — the division is therefore in no way comparable to the differential divisions of *Dytiscus*.

In *Protenor* it is evident that the substance forming the chromatin nucleolus is of the same nature as the chromatin which forms the chromosomes for the two large chromosomes are evolved from part of the substance which at one stage forms a nucleolus and further there is evidence that from a like nucleolar structure may be evolved not only the two large chromosomes but the entire group of chromosomes typical of this form (photos 5—12). In *Protenor* therefore the chromatin nature of this substance is evident and this feature it has in common with GIARDINA's interpretation of the nature of the substance which forms the ring of *Dytiscus*. Both DEBAISIEUX and GÜNTHERT however insist that the substance forming the ring of *Dytiscus* can at an early stage be differentiated from the chromosomes. GÜNTHERT interpreting it as "Zerfallsprodukte" of the chromosomes and DEBAISIEUX claiming for it a nucleolar rather than chromatin nature. He says: «Quelle que soit son organisation, cet élément offre une colorabilité nettement distincte de celle des chromosomes. Après coloration à l'hématoxyline de HEIDENHAIN et au rouge Congo, il est coloré en rouge, tandis que les chromosomes sont colorés en noir» p. 212. «Rappelons d'abord qu'une fois apparue, la masse chromatique, — et ici nous n'avons fait que confirmer GIARDINA, — est transmise à travers quatre cinèses successives à l'ovocyte. Seulement, pendant le grand accroissement de l'ovocyte, contrairement à ce que décrit GIARDINA, la masse chromatique se fragmentant en nombreux corps d'aspect nucléolaire, fournit tout le réseau qui remplit la cavité nucléaire, les chromosomes diplotènes n'occupant qu'une portion restreinte de l'aire du noyau. Par conséquent, la masse chromatique fournit, en somme, un réseau analogue à celui qui dans la plupart des œufs remplit la vésicule germinative, en dehors des chromosomes persistants. Remarquons en second lieu que l'ovocyte du *Dytiscus*, ni pendant son étape synaptique, ni pendant son grand accroissement, ne possède, contrairement à la plupart des œufs, de véritable formation nucléolaire» p. 226.

Disagreement in the observations and conclusions of investigators studying the same subject is a familiar fact and may it not be due largely to variability of the structures under discussion as well as to the bias of the investigator in favor of one set of facts. Perhaps however none of us can plead not guilty to GOLDSCHMIDT's accusation, »Daß derjenige,

der das Auffinden einer Erscheinung für möglich hält, mit ganz andrer Intensität nach ihr sucht als der, der von vornherein von ihrer Unmöglichkeit überzeugt ist.«

In *Protenor* there can be no question that the chromatin nucleolus of the spermatocytes gives rise to the large chromosome of the first prophase but we believe with Goldschmidt (1910), Wassilieff (1907) and Buchner (1909) that only a portion of the substance of the chromatin nucleolus is used for this chromosome and it does not therefore represent merely a persisting chromosome. One fact indicating this is the lack of agreement between the relative amount of chromatin in the nucleolus and in the reticulum in some of the preparations, with the relative amount of chromatin in the large chromosome as compared with the rest of the chromosomes. For example, compare the relative amount of chromatin in the accessory chromosome (at upper periphery of the group) in photo 43 with the relative amount of chromatin in the chromatin nucleolus of photo 38. These facts are in accord with the many cases on record in which the chromatin nucleolus is figured as a structure much larger than the chromosome to which it gives rise. It seems to us the important point is whether the structure can be identified as a chromosome persisting from one cell generation to the next or whether it is the nucleolus of the cell having no closer relation to the chromosomes than has been claimed for other nucleoli. Both in *Anasa tristis* and *Euschistus variolarius* we gave the evidence pointing to the conclusions that the chromatin nucleolus is the homologue of the nucleolus of other cells and is not a persisting chromosome. In both these forms we found evidence of the persistence of a nucleolus at an early prophase stage when all the chromosomes were present and could be demonstrated in a single photograph. The persisting nucleolus may represent only a part of the original structure and therefore these facts would not demonstrate that the chromatin nucleolus and the chromosome are independent structures but they do seem to demonstrate that the chromatin nucleolus is not simply a chromosome that persists from one cell generation to the next. Identifying the chromatin nucleolus as a nucleolus and not merely a persisting chromosome can be claimed also for the ovarian nucleolus of *Protenor*. The ovarian nucleoli arise by a segregation of chromatin granules, a method which has been described as typical of the origin of nucleoli in general. This is demonstrated in photo 44, plate XVII. Further the great variability in size and form of this structure is another feature typical of nucleoli in general.

Again, like *Anasa tristis* and *Euschistus variolarius* we find no other structure in these cells which can be interpreted as the nucleolus unless

the exceedingly small chromatic body which is sometimes present in the ovarian cells as well as in the spermatocytes can be interpreted as the nucleolus of these cells. This small chromatic body is most distinctly demonstrated in the ovarian nucleus of photos 33 and 34, in one of the five nuclei of photo 47, and in photos 52 and 54.

In the spermatocytes it is clearly present in photo 38 and it is also seen although less distinctly in some of the other nuclei. It is interesting to note that in many of these cases the relation in size between this small body and the nucleolus is exactly the same as between the large and small nucleoli which are so frequently found in *Euschistus*. Compare for example photos 52 and 54 with photos 2 and 6 of Foot and Strobell (1909).

Montgomery (1901) in his figs. 118 and 124 demonstrates two small chromatic bodies. He finds them both in the spermatogonia and spermatocytes and he interpreted them in 1901 as chromatin nucleoli and in 1906 as diplosomes. They are probably structures similar to those we have demonstrated, though as a rule, we find only one. Photo 33 is an exception as two or even three are seen. The inconstancy in their size, number, and form makes their identification as two of the somatic chromosomes very doubtful, and questions whether the chromatic bodies demonstrated by us are the same structures as those figured by Montgomery. In the germinal vesicles we have found no chromatin nucleolus and further, we have not been able to demonstrate the large achromatic nucleolus we demonstrated in *Euschistus variolarius* and found also in *Anasa tristis*.

But in view of the great variability of such structures we are by no means prepared to say that they are never present in *Protenor*. The only evidence we have that they may sometimes be found in later stages is the fact that they can be demonstrated in some of the younger nuclei, photos 58—61 and 63, plate XVIII, and further, in sections we occasionally find a large chromatin nucleolus in the germinal vesicles at about the stage of development of those shown in photos 75—81. From the point of view of variability we may record the fact that in rare cases we have found in *Euschistus variolarius* an enormous chromatic nucleolus instead of the large achromatic nucleolus. These cases give an impression that the achromatic nucleolus is impregnated with a deeply staining substance, but as such cases have been found only in sections, we cannot be sure that fixation is not at least in part responsible.

In this connection certain variations in the large nucleolus of *Allolobophora foetida* may be of interest. Although we demonstrated in 1905 that this large nucleolus may remain intact after the chromosome are

formed we have rare cases in which a large chromatic nucleolus is breaking up and the chromosomes apparently emerging from this nucleolus. We have several photographs showing this condition but as these nucleoli are much larger than typical and the chromatin shows other atypical features, we concluded they were not normal. We now believe such cases are in keeping with what is known of the great variability of nucleoli and should not be set aside as abnormal.

We have found nothing in the germinal vesicles of *Protenor* which can be homologized to either the large or the small nucleolus of *Allolobophora foetida* and further there is a lack of agreement in the earlier development of the oöcytes. Photos 62—72 (which may be interpreted as stages prior to the great growth period) are quite different from the corresponding period of development in *Allolobophora* and indicate what has been so often suggested — that it is not safe to assume that in the development of the cell the same results must always be achieved through the same morphological expressions.

It is an interesting fact that in *Protenor* the chromatin nucleolus is not present in the female at the stage at which it is present in the male and on the other hand it is present in the female at the stage at which it is claimed it is absent in the male. Montgomery (1901) found that the chromatin nucleolus (X-element) is not present in the spermatogonia — first appearing in the spermatocytes — and his conclusions on this point have not been questioned by subsequent workers on this form (Wilson 1906 and Morrill 1910).

In accord with Morrill we find that the chromatin nucleolus is not present in the oöcytes at the stages in which it is so pronounced in the spermatocytes but we have demonstrated further that it is present in the ovarian cells at the stages in which it is claimed it is absent in the male.

It must be conceded that the evidence that the ovarian nucleolus frequently gives rise to the two large chromosomes of the female and that the large chromosome of the spermatocytes arises from a similar nucleolus are facts which seem to show a close relation between the so-called sex determining chromosomes. We ought however to find this same relation between the so-called sex chromosomes in other forms if the evidence is to be considered of much value but we have been unable to demonstrate a similar ovarian chromatin nucleolus in either *Anasa* or *Euschistus* though we have used exactly the same methods [1]). Further there is evidence in

[1]) In sections, one, two or three nucleolar structures are frequently present, and are about equal in size, but if any if these are identical with the ovarian nucleolus. It seems reasonable to expect that they would be demonstrated by the same technique.

Protenor that sometimes all the chromosomes may arise from a chromatin nucleolus (plate XIV, photos 5 to 10, and plate XV, photos 11—14). Again the presence of amitosis in this form certainly weakens if it does not cancel any evidence we find that might be claimed as a support of the continuity hypothesis.

Chromosomes.

In the few forms we have studied we have found enough variability in the size, number and form of the chromosomes to make us skeptical of all theories which involve a belief in their individuality and continuity. We do not question and have never questioned the observations of the investigators who have recognized definite forms and definite behavior of certain chromosomes; but we have questioned that such forms and such behavior have enough constancy to justify the far-reaching generalizations which have been based upon them.

Of the presence of rings and crosses in *Allolobophora foetida* (1905) we stated: "We find no constant form differences of the chromosomes . . . These present a variety of shapes-rings, figures 8, crosses etc. without any regularity or constancy . . . In some cases all the eleven chromosomes are rings and sometimes not a single ring is found." In *Anasa tristis* (1907) we found similar irregularities — for example the cross form is not always associated with a definite chromosome, though "there is a frequent repetition of certain forms". As the to size relations, "We constantly find a variation in the relative size of entire bivalents, such variations making size relations of a chromosome a most uncertain guide for identification, unless the difference in size is so extreme it allows for individual variation."

In *Euschistus variolarius* (1909) we found similar variations — it is "possible to select chromosome groups which exactly fit a given theory; but many groups can also be found that are a serious menace to these theories, while on the other hand they present no difficulties to the conception of those who regard the number, size and form of the chromosomes as inherited characters — the expression of cell activities rather than the cause."

In *Protenor* similar variations exist as shown by a comparison of the few chromosome groups demonstrated in this paper. In the bivalent chromosome groups of photos 85, 86, 87 and 88, plate XX, one and sometimes two of the chromosomes are in the form of a cross; but this form is not always associated with the same chromo-

some. As to the relative sizes we have found here as in *Anasa tristis* enough variation to make the identification of individual chromosomes impossible except in those cases in which the difference in size is so extreme that it allows for individual variations. For example in all the female groups of chromosomes two chromosomes are readily identified as larger than the others; but the relative size of these two large chromosomes is not constant. Photo 14, plate XV shows a group of fourteen chromosomes from one of the large nuclei of zone B of a terminal chamber. Two chromosomes much larger than the others are easily identified but their relative size is quite different from that of the two largest chromosomes of some of the other groups. Photos 15 to 18, plate XV are chromosome groups from the smaller cells of a terminal chamber. In photo 15 the difference in size between the two largest chromosomes and the next in size is quite different from the relation between these chromosomes shown in photo 14. In the group of photo 16 again the difference between the two largest chromosomes and the next in size is not nearly as great as in the group of photo 14 and this is also shown in the group of photo 17. In photo 18 however the difference between the two largest chromosomes and the next in size is greater than the relation between these chromosomes in the groups of photos 15, 16 and 17 though not as great as in the group of photo 14.

In the bivalent groups of the germinal vesicles (plate XX) the relative sizes of the chromosomes are also subject to variations though one pair larger than the others can always be identified.

Morrill (1910) found four groups of first maturation chromosomes which he has demonstrated in his fig. 5 *e to h*. In these he shows a marked variation in the relative sizes of some of the chromosomes though he says: "Indeed the bivalents as a whole, show the same relative size differences as the chromosome pairs in the oögonia." In his figure *e* the second larger bivalent is fully twice as large as the next in size and in figure *f* the second, third and fourth large bivalents are nearly the same size. In the chromosome groups of our photographs 87—88 plate XX the second large chromosome is by no means twice as large as the next in size, though in the oögonial group of photo 15 and 57 for example such a relation is shown between the chromosome pairs which represent these bivalents. If the size variations in the chromosomes of Morrill's two groups can be set aside as due to the plane of the sections this cannot be offered as an explanation of a like amount of variability which is shown in our smear preparations.

Exact relations are also lacking in the spermatogonial and spermato-

cyte groups. In photo 36, plate XVI the pair of chromosomes next in size to the largest are together nearly if not quite equal in size to the largest chromosome but in the spermatocyte group from the same testis shown in photo 43 the chromosome on the upper periphery of the group which must represent the large chromosome of the spermatogonial group is not as large as the largest tetrad, in fact it is more nearly the size of the second tetrad.

Such irregularities in the form and size of the chromosomes are inconsistent with the theories which attribute so much value to these relations that they are supposed to regulate certain vital phenomena, even so fundamental a phenomenon as the determination of sex. Such irregularities support rather the conclusions of those who hesitate to attribute so much significance to the morphology of the chromosomes.

Such an experienced cytologist as Prof. Farmer concludes that the facts "force a surrender of the doctrine that there exists any permanent structural arrangement in an individual chromosome lasting from one generation to another . . . The chromosomes like other organs are subject to change both as to size and number. Such a difference is not uncommon between closely allied species and in several of the ferns to which I have referred the number is not constant even in the same individual. It would seem, then, that the bodies in question form rather a frail support for the heavy weight of speculation that has been piled upon them" p. 462.

Professor Farmer is one of several investigators who has recognized a variation in the number of chromosomes even in the same individual. Della Valle (1909) has recently demonstrated in Salamander marked variability in the number of chromosomes in the same individual and he has exhaustively summed up the evidence pointing to a variability in the number of chromosomes in other forms, claiming that these facts are fatal to the continuity hypothesis.

In a recent paper Winiwarter and Sainmont (1909) have shown some degree of inconstancy in the number of somatic chromosomes, but what is more important they find the reduced number of chromosomes much less than half the somatic number, p. 197: "Une constatation plus importante c'est que, chez le chat comme chez le lapin (von Winiwarter 1900), le nombre somatique et ovogonial ne correspond pas à celui de l'œuf à maturité. Chez le lapin, nous comptions 42 chromosomes d'une part et seulement 10 à 12 (soit 20 à 24) chromosomes dans la première figure polaire. Cette remarque, passée inaperçue dans la littérature,

nous la confirmons chez le chat: nous voyons ici 36 chromosomes et dans la première figure polaire 12 (soit 24)».

Certain variations in the number of chromosomes have been admitted even by those who accept the continuity hypothesis, and various explanations have been offered to justify the assumption that these are only apparent inconsistencies. For example, premature division or retarded division of one or more chromosomes at the metaphase or anaphase, or fragmentation or fusing of one or more chromosomes of any group. An attempt to count the number of chromosomes would indeed be useless if all variations are to be set aside by claiming fragmentation of individual chromosomes in those cases where the presence of one or more extra chromosomes may embarrass a theory, or by claiming fusion of two or more chromosomes when the requisite number is not present.

We would not question the probability that variation in the number of chromosomes may be caused in some cases, by fragmentation or fusing of individual chromosomes, but that this method is adequate to account for all variations is rendered doubtful by those cases in which the number of chromosomes may remain typical, while the relative sizes vary, for in these cases there is evidently a readjustment of the chromatin which is independent of the number of the chromosomes. This is in accord with the accumulating evidence which indicates that the chromosomes represent a segregation of smaller units, a feature rarely questioned for other organs of the cell — the nucleolus, the centrosome and the various mitochondrial structures. Farmer's conclusions would seem more in accord with many of the facts, "The chromosomes like other organs are subject to change both as to size and number". . . They are "an expression of the organizing function of the cell as a whole".

This conception of the chromosomes as organs of the cell is in accord with most authors who doubt the fundamental significance which has become associated with these structures. Fick (1907) expresses this idea very clearly, »Die Annahme, daß es sich bei den Sonderchromosomen um ein besonderes Individuum handelt, das sich von Zellgeneration erhält, bringt nicht einmal eine wesentliche Erleichterung der Erklärung, ihr Auftreten bleibt nach wie vor wunderbar und unerklärt. Das Erscheinen verschieden gestalteter bzw. sich verschieden verhaltender Chromosomen in den Zellen desselben Individuums gehört eben in diesen Fällen zum Typus der Art, es ist das adäquate Produkt der betreffenden chemischen und physikalischen Verhältnisse und ist ebenso unerklärt wie irgendwelche andere besondere charakteristische Einrichtung bei der

Zellteilung der betreffenden Art oder auch wie irgendeine andre körperliche Eigenschaft, z. B. wie die Tatsache, daß bei derselben Art auf der einen Stelle kurze, an der andern lange, oder hier pigmentierte, dort helle Haare wachsen oder hier Schneidezähne und dort Backzähne, hier immer eine kleine, dort eine Großzehe, hier ein langer Mittelfinger, dort ein kleiner Finger, oder eine bestimmt gestaltete Feder usw. entsteht, wofür wir eben 'verschiedene Anlagen' verantwortlich zu machen pflegen«.

Child (1910) expresses a like conception when he says: "To speak specifically why should we regard the chromosome problem as fundamentally different from the problem involved in the recurrence in each generation of five fingers upon a hand, or the regulatory development of a definite and characteristic number of tentacles in a piece of an actinian body? The farther we proceed in our physiological analysis of development phenomena the more evident does it become that the finger and the tentacle do not persist as distinct and definite entities during all the periods when they are not present as visible structures. The only thing which persists is the physiological capacity to react in a certain way under certain conditions, and when these conditions arise the characteristic structure-complex appears.

In short, when we consider the chromosome problem from a physiological instead of a purely morphological point of view, and we must consider it in this way sooner or later, we can find no good reason for regarding it as fundamentally different from many other problems of ontogeny. Physiologically it is no more difficult to conceive that a piece of nucleus should under certain conditions give rise to the characteristic number of chromosomes, than that a piece of the actinian body should give rise to the characteristic number of tentacles. The correctness of the chromosome hypothesis is far from being demonstrated, and in view of this fact we must consider the possibility of revising the hypothesis to fit the facts, as well as that of bringing the facts into accord with the hypothesis" p. 118.

This conception of the chromosomes as organs of the cell falls in line with most of the observed facts. It avoids the necessity of forced explanations in order to set aside the many variations which menace certain theories and on the other hand it in no way conflicts with the presence of definite forms and sizes and their frequent recurrence from one cell generation to the next. Further it avoids the objections that are so obvious to the assumption, that in the cases in which the accessory chromosome does not to divide the spermatozoon lacking this element must necessarily cause the egg which it fertilizes to produce a male and the

spermatozoon which receives the accessory chromosome must necessarily cause the egg to develop into a female.

If the chormosomes are the result of physical and chemical reaction of the cell as a whole, as held by Fick and others it is quite conceivable that the sperm nucleus as a whole may develop the chromosomes necessary to complete a male of female chromosome group and that they are thus the expression rather than the determining cause of certain vital phenomena. This estimate of the chromosomes would seem to be reasonable except to those who are bound by the notion that the chromosomes are definite entities, passed on from one cell generation to the next as governing factors.

During recent years so many facts have accumulated indicating a definite behavior of special chromosomes that speculations regarding their behavior have culminated in even more interesting interpretations than those at one time connected with the centrosome and in fact one interpretation has been suggested not unlike Fol's "Quadrille of the centers". Prof. Morgan (1909) says: "The only way in which such a combination can be accounted for, on the assumption that here too the original number is still retained — as in *P. fallax* — is that the two smallest of the eight have shifted over from their larger partners and have united with each other; the larger partners have also combined to produce the very large chromosome" p. 270. The above might justly be called a quadrille of the chromosomes.

There is a good deal of evidence indicating that variations that have been demonstrated for the form, size and number of the chromosomes may be extended also to the behavior of the chromosomes. It has been shown for example that such an apparently significant phenomenon as pseudo-reduction is not always confined to the maturation divisions. Its occurence among somatic cells has been demonstrated. Häcker (1907) found pseudo-reduction in the "Urgeschlechtszellen" and early cleavage cells of *Cyclops*, he says: »Endlich kann auch die Halbierung der Chromosomenzahl auch schon außerhalb der Reifungsperiode zum Vorschein kommen. Den ersten derartigen Fall habe ich (1892) in den Urgeschlechtszellen von *Cyclops* gefunden, und ich konnte später zeigen, daß auch in den früheren Furchungszellen dieselbe (scheinreduzierte) Chromosomenzahl wie im Keimbläschen auftritt« p. 108.

In 1906 Prof. C. E. Walker described and figured pseudo-reduction in the leucocytes of the guinea pig and rat, he says: "It is obvious as will be seen from the figures, which are taken from cells occurring in the bone-marrow and lymphatic glands of the guinea pig and rat, that the number

of chromosomes is not more than half the normal somatic number which is 32 in both cases. . . . The great frequency with which this division occurs suggests strongly that there are several generations of cells showing the reduced number of chromosomes."

These observations as to the presence of pseudo-reduction in cells outside the maturation divisions are supported in *Protenor*. Pseudo-reduced groups of chromosomes are found in cells of the terminal chamber — not only in zone C but in zones B and A — and these facts are in accord with BUCHNER's observations on *Gryllus*. He finds tetrads in the oögonial divisions of this form.

A small group of reduced chromosomes is shown in photo 35, plate XVI and a comparison of this group with the earlier stages of the germinal vesicles of plate XVIII, photos 62, 63 etc., makes it exceedingly doubtful whether such a reduced group is to be interpreted as an early stage of development of the germinal vesicle — especially as such groups are found in zone A as well as in zone C.

Photo 12, plate XV demonstrates a case of pseudo-reduction in one of the large nuclei of zone B. Such nuclei cannot possibly be confounded with the germinal vesicles for we have never found germinal vesicles of the stage shown in photos 83—88, plate XX in the terminal chambers. We have found them only in the eggs we have taken from the egg chambers. Prophases of the large nuclei of zone B are shown in photos 9—11 and they in no way resemble the germinal vesicle prophases shown in the photos of plates XIV and XV. It would seem that the evidence in *Protenor* supports the claim that pseudo-reduction at least in some forms is not confined to the maturation divisions, this indicating that variability is not limited to the morphology of the chromosomes but may be extended to their behavior also.

We believe that in *Anasa tristis* we demonstrated facts which it must be conceded indicate at least a marked variability in the behavior of the accessory chromosome of this form. We demonstrated by a full series of photographs that the accessory chromosome can divide in the second maturation spindle, a phenomenon which normally ought not to occur if the theories surrounding this chromosome have a foundation in fact.

We would like to correct the impression sometimes given that we intended to deny the observations of those who claim that the accessory chromosome may fail to divide in the second spindle of *Anasa tristis*. We never for a moment doubted that the accessory chromosome frequently fails to divide in the second spindle, though the fact that we

could demonstrate its second division made us very skeptical of the significance attributed to its frequent non-division, and created a doubt as to whether the cases in which it failed to divide were normal. We were careful to confine our demonstration to the fact that the accessory chromosome can divide in the second spindle, and we claimed, and still claim that not until the fundamental significance attached to the non-division of this chromosome can be established, can its demonstrated division in *Anasa tristis* be justly set aside as abnormal.

From the point of view of variability EDWARD's results in *Ascaris megalocephala* are of interest. Out of a lot of forty-five individuals he finds two which show an accessory chromosome in the maturation divisions and further, the method of division of the accessory chromosome is variable. "Studying a great number of males, I have found in one lot of forty-five from one horse two individuals, worms A and B in which an idiochromosome can be followed throughout the whole maturation period, and another worm C, from which unfortunately the division section was lost, but which shows the idiochromosome in the primary spermatocytes" p. 424.

In worm A the accessory chromosome divides in the first spindle, whereas, he adds, "In worm B most often in this first maturation division, the idiochromosome passes undivided to one of the secondary spermatocytes (pl. XXI, fig. 3). Although it is sometimes divided[1]) and distributed just as described for worm A" p. 425.

In worm A the accessory fails to divide in the second spindle, whereas, "in worm B the two halves of the idiochromosome which at the end of the first maturation division lodged undivided in one of the two secondary spermatocytes, are distributed in the second division to the daughter spermatids (pl. XXI, fig. 21)" p. 425.

When such variations occur in the same individual it has been suggested as an explanation that a variation in one spindle may be corrected in the other, but this cannot hold for *Anasa tristis*. It cannot be said that in those cases in which the accessory divides in the second spindle, it must have failed to divide in the first spindle, for the method of division and the form of the chromosomes are quite different for the two spindles — in the first spindle it divides longitudinally and in the second transversely. If the significance holds which has been attributed to the failure of this chromosome to divide in one of the two maturation divisions, then those cases in which it divides twice in *Anasa* must be set aside as pathological.

---

[1]) The italics are ours.

the spermatozoa resulting from these divisions having no functional activity.

Only to those who have endowed the chromosomes with causal attributes can variations in their behavior cause embarrassement. If we find them subject to marked variations it is a characteristic they have in common with other structures in the cell — the nucleolus, the centrosome, the mitochondria, the polar rings and other structures which have been found to be so variable that interest in speculations as to their possible causal significance has steadily waned, and those who believe the chromosomes are equally variable may justly suspect that the hypotheses surrounding these structures may be destined to the same fate as the speculations so long surrounding other cell organs, notably the centrosome.

New York, February 1911.

Bibliography.

Buchner, Paul. 1909. Das accessorische Chromosom in Spermatogenese und Ovogenese der Orthopteren, zugleich ein Beitrag zur Kenntnis der Reduktion. Arch. f. Zellf. Bd. III.

—— 1910. Zur Bedeutung der Heterochromosomen. Arch. f. Zellf. Bd. V. Hft. 3.

Child, C. M. 1904. Amitosis in Moniezia. Anat. Anz. Bd. XXV. Nr. 22.

—— 1907. Amitosis as a factor in normal and regulatory growth. Anat. Anz. Bd. XXX. Nr. 11/12.

—— 1910. The occurrence of Amitosis in Moniezia. Biol. Bull. Vol. XVIII. Nr. 3.

Debaisieux. 1909. Les débuts de l'ovogénèse dans le Dytiscus Marginalis. La Cellule Tom. XXV. 1er fascicule. 1909.

Farmer, J. Bretland. 1907. On the Structural Constituents of the Nucleus and the Relation to the Organisation of the Individual. Croonian Lecture. Proc. Royal Soc. Vol. LXXIX.

Fick, R. 1907. Vererbungsfragen, Reduktions und Chromosomenhypothesen. Ergebnisse der Anat. u. Entwicklungsgeschichte. Bd. XVI. 1906.

Flemming. 1892—93. »Zelle, Entwicklung und Stand der Kenntnisse über Amitose.« Ergebn. der Anat. u. Entwicklungsgesch. Bd. II u. III.

Foot and Stobell. 1905. Prophases and Metaphase of the first Maturation Spindle of Allolobophora foetida. Amer. Journ. Anat. Vol. IV. Nr. 2.

—— 1907. A study of Chromosomes in the Spermatogenesis of Anasa tristis. Amer. Journ. Anat. Vol. VII. Nr. 2.

—— 1909. The Nucleoli in the Spermatocytes and Germinal Vesicles of Euschistus Variolarius. Biol. Bull. Vol. III. Nr. 2.

Giardina, Andrea. 1901. Origine dell' oocyte e delle cellule nutrici nel Dytiscus. Internationale Monatsschrift für Anatomie und Physiologie. Bd. XVIII. 1901.

Glaser, O. C. 1908. A Statistical Study of Mitosis and Amitosis in the Endoderm of Fasiolaria tulipa. Bio. Bull. Vol. XIV. No. 4.

Godlewsky, E. (jun.). 1909. Das Vererbungsproblem im Lichte der Entwicklungsmechanik betrachtet. Leipzig.

Goldschmidt, R. 1909. Das Skelet der Muskelzelle von Ascaris nebst Bemerkungen über den Chromidialapparat der Metazoenzelle. Arch. f. Zellf. Bd. IV.

—— 1910. Kleine Beobachtungen und Ideen zur Zellenlehre. I. Accessorisches Chromosom und Geschlechtsbestimmung. Arch. f. Zellf. Bd. VI.

Gross, J. 1905. Untersuchungen über die Ovarien von Mallophagen und Pediculiden. Zool. Jahrb. Bd. XXII. Hft. 2.

Günthert, Thomas. 1910. Die Eibildung der Dytisciden. Zool. Jahrb., Abt. Anat. u. Ont. Bd. XXX.

Gutherz, S. 1909. Wird die Annahme einer Beziehung zwischen Heterochromosomen und Geschlechtsbestimmung durch das Studium der Gryllus-Oogenese widerlegt? Naturforschende Freunde. Nr. 9.

Häcker, Valentin. 1907. Die Chromosomen als angenommene Vererbungsträger. Ergebnisse und Fortschritte der Zoologie. Bd. I. Hft. 1.

Henneguy, L. Felix. 1904. Les Insects, Morphologue, Reproduction, Embryogenée. Paris.

Jordan, H. E. 1908. The accessory chromosome in Aplopus Mayeri. Anat. Anz. Bd. XXXII. No. 11—12.

Jörgensen. 1908. Untersuchungen über die Eibildung bei Nephelis vulgaris usw. Arch. f. Zellf. Bd. II. Heft 2.

Knoche, E. von. 1910. Experimentelle und andre Zellstudien am Insektenovarium. Zool. Anz. Bd. XXXV. Nr. 9—10.

Korschelt, Eugen. 1886. Über die Entstehung und Bedeutung der verschiedenen Zellenelemente des Insektenovariums. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XLIII. Hft. 4.

Lubbock, John. 1859. On the Ova and Pseudova of insects. Philosophical Transactions of the Royal Society. 1859. Vol. CXLIX. London 1860.

Maximow, A. 1908. Über Amitose in den embryonalen Geweben bei Säugetieren. Anat. Anz. Bd. XXXIII.

Montgomery, Thos. H. 1901. A Study of the Chromosomes of the Germ Cells of Metazoa. Trans. Amer. Philos. Soc. Vol. XX.

—— 1906. Chromosomes in the Spermatogenesis of the Hemiptera heteroptera. Trans. Amer. Philos. Soc. Vol. XXI.

Morgan, T. H., 1909. The Biological and Cytological Study of Sex Determination in Phylloxerans and Aphids. Journ. Exp. Zoöl. Vol. VII.

Moroff, Theodor. 1909. Oogenetische Studien. I. Copepoden. Arch. f. Zellf. Bd. II.

Morrill, Charles V. 1910. The Chromosomes in the Oögenesis Fertilization and Cleavage of Coried Hemiptera. Biol. Bull. Vol. XIX. Nr. 2.

Nowikoff, M. 1910. »Zur Frage nach der Bedeutung der Amitose.« Arch. f. Zellf. Bd. V. Hft. 3.

Patterson, Thos. J. 1908. Amitosis in the Pigeon's Egg. Anat. Anz. Bd. XXXII. No. 5.

Preusse, F. 1895. Über die amitotische Kernteilung in den Ovarien der Hemipteren. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LIX.

vom Rath, O. 1891. Über die Bedeutung der amitotischen Kernteilung im Hoden. Zool. Anz. Nr. 373—375.

Regaud, Cl. 1910. Études sur la structure des tubes séminifères et sur la spermatogénèse chez les Mammifères. Archives d'Anatomie Microscopique. T. XI. fasc. II—III.

Valle, Paolo Della. 1909. L'organizzazione della cromatina studiata mediante il numero dei cromosomi. Archiv. Zoologico. Vol. IV. Fasc. 1.

Walker, C. E. 1906. Observations on the life history of Leucocytes. Roy. Soc. Proc. B. Vol. LXXVIII.

—— 1907. Observations on the life history of Leucocytes. Roy. Soc. Proc. B. Vol. LXXIX.

Wassilieff, A. 1907. Die Spermatogenese von Blatta germanica. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXX.

Wheeler, Wm. M. 1889. The Embryology of Blatta Germanica and Doryphora Decemlineata. Journ. Morph. Vol. III. Nr. 2.

Will, Ludw. 1885. Bildungsgeschichte und morphologischer Wert des Eies von Nepa cinerea und Notonecta glauca. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XLI.

Wilson, E. B. 1906. Studies on Chromosomes. III. Journ. Exp. Zool. Vol. III. No. 1.

Winiwarter, H. von and Sainmont, G. 1909. Nouvelles recherches sur l'ovogenèse et l'organogenèse de l'ovaire des mammifères (chat). Archives de Biologie. Tom. XXIV.

Ziegler, H. E. 1891. Die biologische Bedeutung der amitotischen Kernteilung im Tierreich. Biol. Centralbl. Bd. XI. Nr. 12, 13, 15.

Explanation of Plates.

All the photographic reproductions are from our own negatives except photo 1, plate XII which is from a negative made by Dr. James H. Stebbins, Jr.

Photos 1—4 are from sections.

Photos 5—88 are from our smear preparations, stained with Bismarck brown. None of the negatives or prints have been retouched in any way.

Plate XII.

Fig. 1. + 180. Drawing by O. Cassas. Longitudinal section through a terminal chamber of one of the tubes of an ovary. The insect was captured while mating and the ovaries were removed at once. Fixative, Flemming's strong fluid. Stain, iron haematoxylin.

In nearly all the tubes of this ovary one egg chamber was formed each containing an egg with a large germinal vesicle The early development of the egg chamber and the direct connection between the egg and the canal in the centre of zone B are clearly demonstrated in this figure. Delicate branches of the canal are plainly seen ramifying between the large cells of zone B. The widest area of the canal is not shown in this section.

Fig. 2. + 180. Drawing by A. Bessin. Longitudinal section through a terminal chamber of one of the tubes of the second ovary of the individual from which the

terminal chamber of figure 1 was taken. In this ovary an egg chamber was formed in only two of the seven tubes. The delicate branches of the central canal are shown in zone B of this section the canal itself being demonstrated in the second section from the one shown in this sketch. See photo 3. Fixative Hermann's fluid. Stain iron haematoxylin. (See photo 1 for photograph of this section at the same magnification.)

Fig. 3. + 1000. Section of a typical cell from zone B of a terminal chamber from another tube of the same ovary from which figure 1 was drawn. Fixative, Flemming's strong fluid. Stain iron haematoxylin. In this cell the nucleus is fragmenting into four pieces without a corresponding division of the cytoplasm. Photos 21—24 show the same process in isolated nuclei.

Plate XIII.

Photo 1. The same section as fig. 2. + 180.

Photo 2. + 283. A small area of the same section shown in fig. 2 and photo 1. This photo was taken to demonstrate that at the posterior limit of zone B the large nuclei of this zone change very suddenly into the small nuclei of zone C and that this change is largely due to fragmentation of the large nuclei.

Photo 3. + 132. Part of a section of the same terminal chamber shown in photos 1 and 2 and fig. 2. This section demonstrates the central canal. It is the second section from the one shown in photos 1 and 2.

Photo 4. + 155. Section through two egg chambers one immature and the other nearly mature. The connection between the immature egg chamber and the central canal of zone B is not demonstrated in this section although it is present in other sections of this ovary. This photograph was taken to demonstrate that the nearly mature egg chambers are still indirectly connected with the central canal — the nearly mature egg chamber being in direct connection with the nutritive substance of the immature egg chamber which in its turn is fed by the central canal of zone B. The flow of the nutritive substance between the two egg chambers is somewhat deflected by a vacuole which is evidently an artefact.

Plate XIV.

Photos 5—10. Isolated nuclei from the posterior half of zone B. + 1000.

The specimen from which these nuclei were taken was captured while mating and the ovaries removed at once. One or two egg chambers were developed in each tube, and each contained one egg, having the delicate blue tint characteristic of the immature egg.

Photos 5 and 6 show quite typical resting nuclei with part of the chromatin segregated into a nucleolar structure. Photos 7 and 8 demonstrate a direct division of the large nuclei. Photos 9 and 10 show part of the chromatin segregated into a heavy coil. The chromatin of these coils apparently differs in no way from the chromatin which in photos 5—8 is segregated into a nucleolar-like structure.

Plate XV.

+ 1000.

Photos 11 and 12. Isolated nuclei from the posterior half of zone B. These nuclei are in the same area of the same ovary as those demonstrated in plate III. In the nucleus of photo 12 a group of pseudo-reduced chromosomes is seen.

Photo 13. A group of 14 chromosomes from one of the large nuclei of zone B of an ovary removed from an immature insect about one half grown. The ovaries from such immature insects are, as a rule, slightly tinged with yellow and the ovarian tubes are about one third smaller than one of the terminal chambers of a mature ovary. We find no egg chambers in these immature ovaries, but we do find young germinal vesicles developing in zone C.

Photo 14. A group of 14 chromosomes from the same area of the same ovary as the group demonstrated in photo 13.

Photos 15—18. Chromosome groups from the terminal chambers of a mature ovary. The insect from which this ovary was taken had been kept in the laboratory three days and during this time had deposited several eggs.

Photos 19—24. Nuclei from zone B of the terminal chambers of the same ovary from which the chromosome groups of photos 15—18 were selected.

Plate XVI.

+ 1000.

Photos 25—35. Nuclei from terminal chambers of mature ovaries. Photo 25 shows a large nucleus fragmenting into small pieces. (The section demonstrated in photo 2 shows this same phenomenon at the base of zone B.) Photos 26 and 27 demonstrate that large free nuclear fragments, such as those shown at the left of photo 25, the right of photo 30 and in photo 31, may develop without further fragmentation, ultimately forming groups of relatively large chromosomes. Whereas small nuclear fragments, such as those shown in the centre of photo 25, and in photo 32 may develop into smaller chromosome groups, as shown in photos 28, 29, 30, (left) 33, 34 and 35. In most of these nuclei the chromatin nucleolus is a single body, while in others it is double.

Photos 36—43. A few cells from the testes of mature males, reproduced to compare with the ovarian cells. + 1000.

Photo 36. A spermatogonial group of chromosomes.

Photos 37—42. Spermatocytes with the chromatin nucleolus as a rod, a ring or two spheres.

Photo 43. A first spermatocyte prophase group of chromosomes.

Plate XVII.

+ 1000.

Photos 44—57. Are preparations from an ovary from a larval insect, before the appearance of the wing pads. This ovary was exceedingly small and faintly tinged with yellow.

Photo 44. Shows an early segregation of the chromatin into a chromatin nucleolus and photos 45—55 show further development of the nuclei and various morphological phases of the chromatin nucleolus.

Photo 56. This preparation suggests that the two long chromosomes, characteristic of the chromosome groups found in the female may be evolved from the chromatin which at the earlier stages forms a typical chromatin nucleolus. In one of the nuclei of photo 47, and in the nucleus of photos 52 and 54 a second small chromatin nucleolus is present.

Photo 57. A group of chromosomes showing the number and the size relations characteristic of the female.

Plate XVIII.

+ 600.

Photos 58—72. Germinal vesicles in the early stages of development. As some of the germinal vesicles which had reached their maximum growth were too large to be included in the photographic field at a magnification of one thousand diameters, we photographed all these nuclei at a magnification of six hundred diameters to facilitate a comparison of the different stages.

Photos 58—61 inclusive show relatively large nuclei with an undifferentiated condition of the chromatin, these later developing to the stage of differentiation (leptotène) shown in photo 68.

Photo 62. A group of very young oöcytes. Each cell is intact, the cytoplasm and nucleus being distinctly demonstrated. At this stage the chromatin shows no structural differentiation characteristic of the leptotène stage, which appears first in the stage shown in photo 65. The larger oöcyte in the centre of the group of photo 62, with its increased amount of cytoplasm, justifies the interpretation that all these cells are oöcytes.

Photo 63. Four young oöcytes similar to those of photo 62.

Photo 64. A similar young oöcyte in which the chromatin still shows no structural differentiation. Part of the cytoplasm is intact.

Photos 65—72. Germinal vesicles isolated from the cytoplasm.

Photo 65. An example of the smallest germinal vesicle in which we have found the chromatin showing the typical leptotène stage.

Photos 66—72. Show progressive stages of the differentiation of the chromatin into chromosomes.

Plate XIX.

+ 600.

Photos 73—80. Demonstrate the growth of the germinal vesicles with the accompanying changes in the size and arrangement of the chromatin threads, changes which up to a certain point, seem to represent almost a complete inversion of the chromatin development shown in the earlier stages. (See plate XVIII, photos 68—71).

Photo 80. Shows the latest stage in which the chromatin threads can be demonstrated. Beyond this stage the threads disappear completely and the germinal vesicle becomes homogeneous.

Photos 81 and 82. Show the chromatin again segregating into more definite threads which ultimately form the maturation chromosomes.

Plate XX.

+ 600.

Photos 83—88. These germinal vesicles demonstrate progressive stages in the formation of the maturation chromosomes.

Fig. 1.

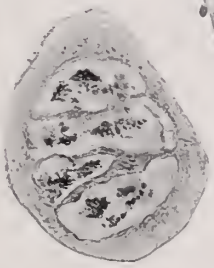
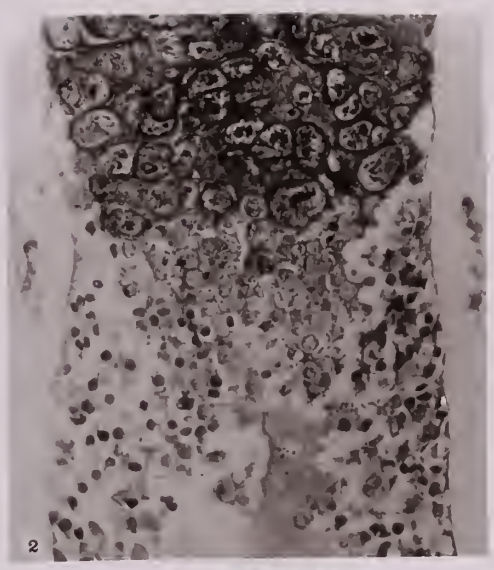


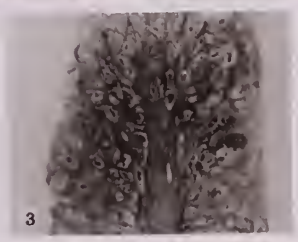
Fig. 3.

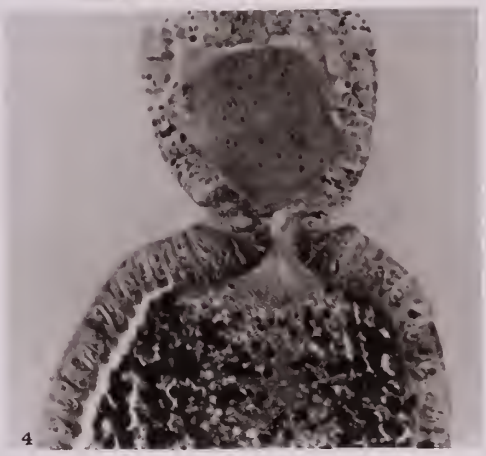
Fig. 2.

Foot-Strobell.

Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig.





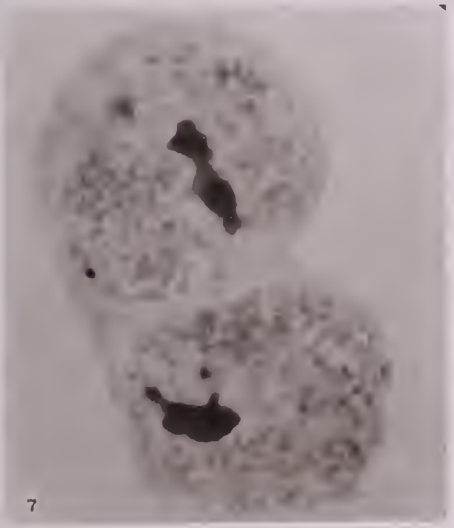


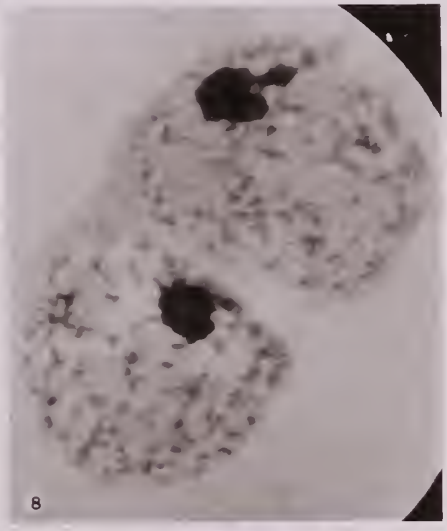
FOOT & STROBELL PHOTOS.

Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig

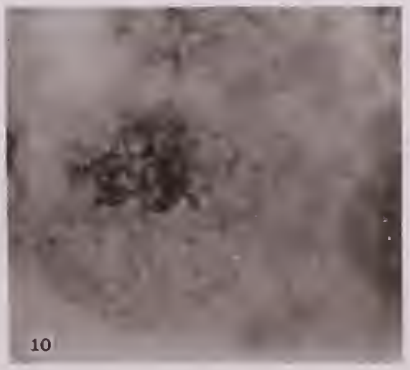
5

6


7

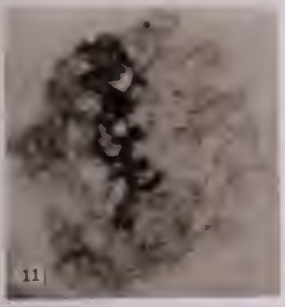

8

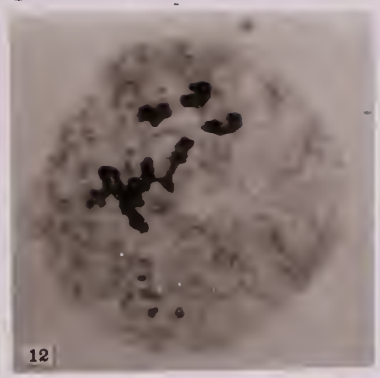
9


10

FOOT & STROBELL PHOTOS.

Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig.


11


12

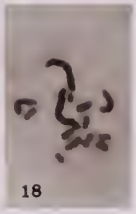
13

14

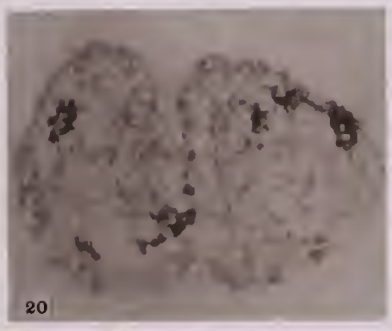
15

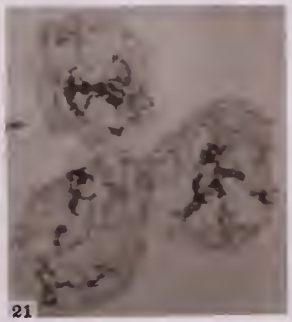
16

17


18

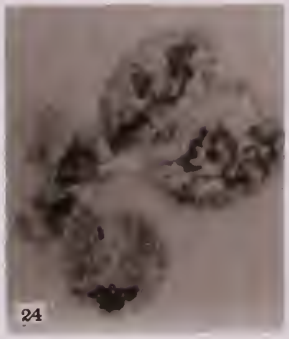
19


20


21

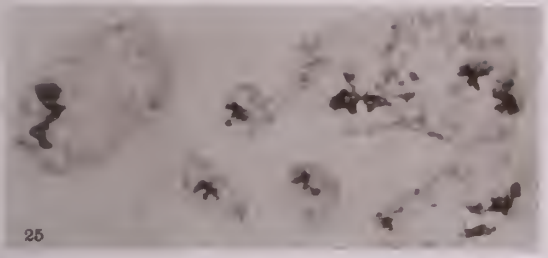
22

23


24

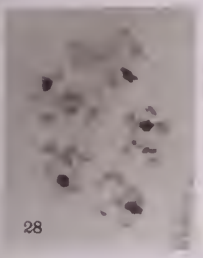
FOOT & STROBELL PHOTOS.

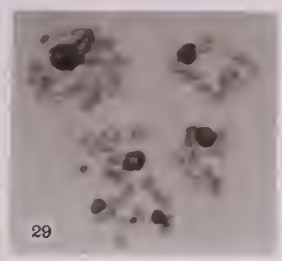
Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig


25

26

27


28


29

30

31

32

33

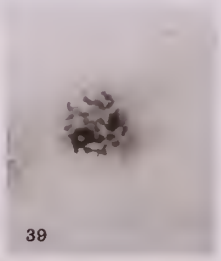
34

35

36

37

38


39

40

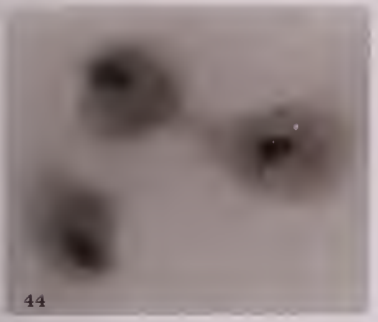
41

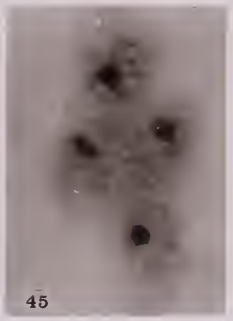
42

43

FOOT & STROBELL PHOTOS.

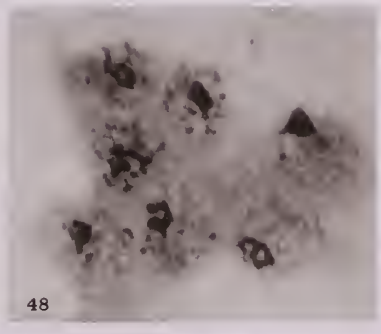
Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig


44

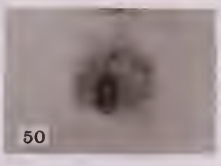

45

46

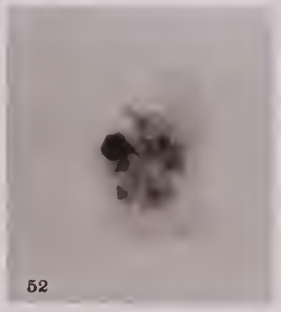
47


48

49


50

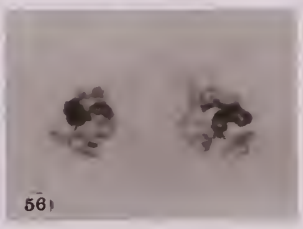
51


52

53

54

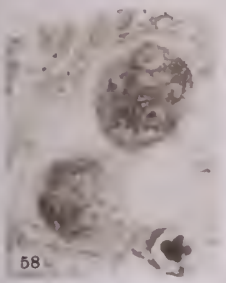
55

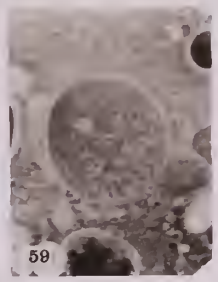

56

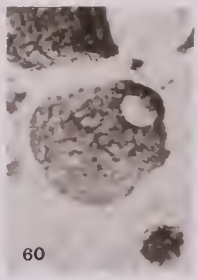
57

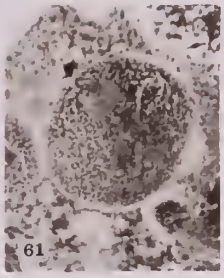
FOOT & STROBELL PHOTOS.

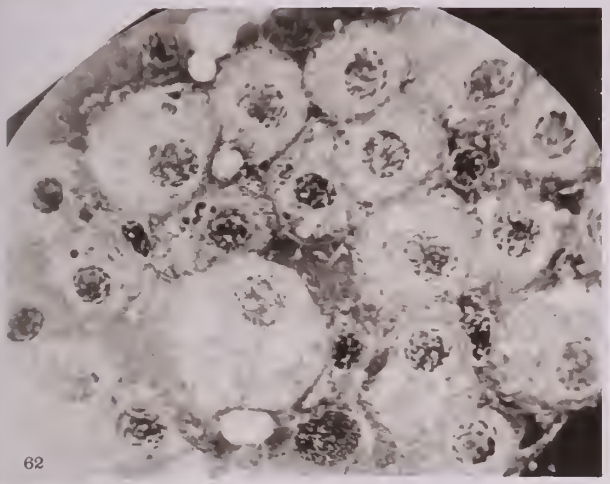
Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig.

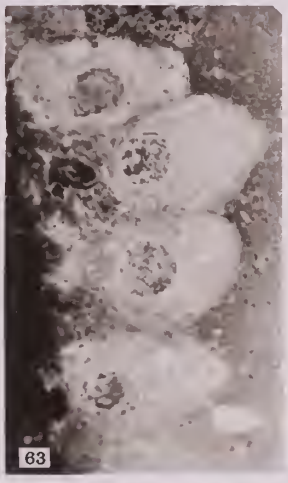

58

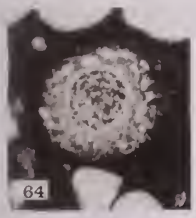

59


60

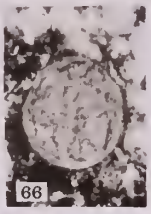

61

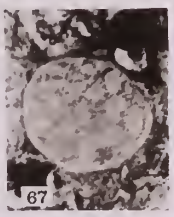

62

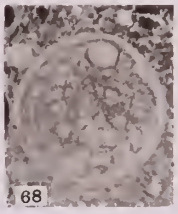

63

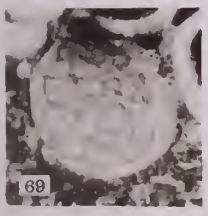

64

65

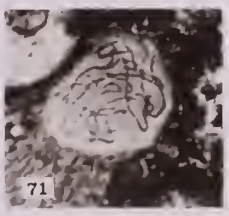

66

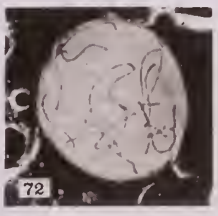

67


68

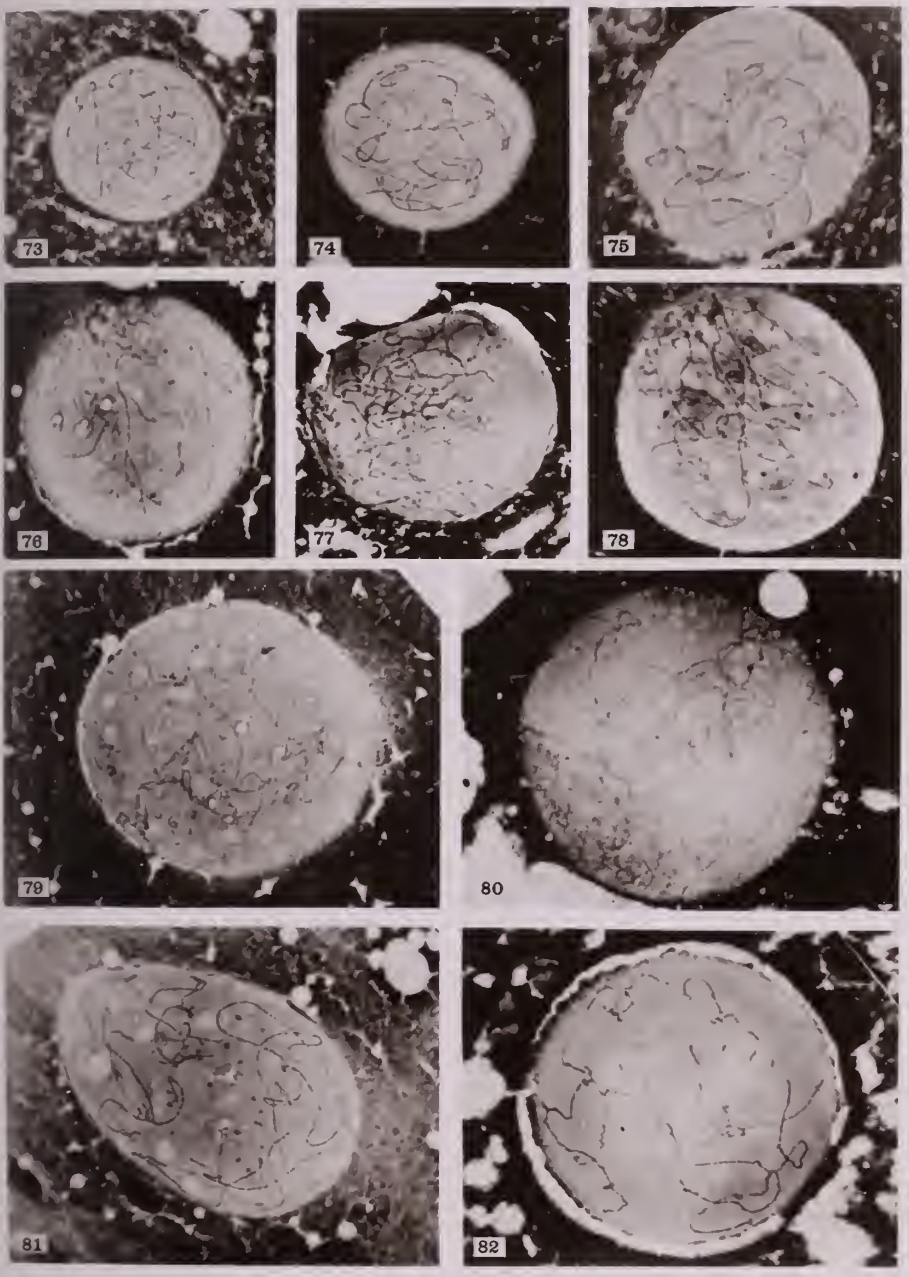

69

70


71

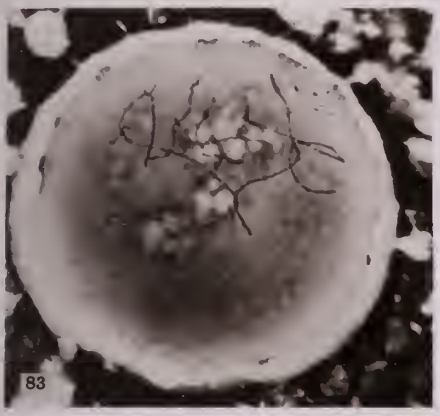

72

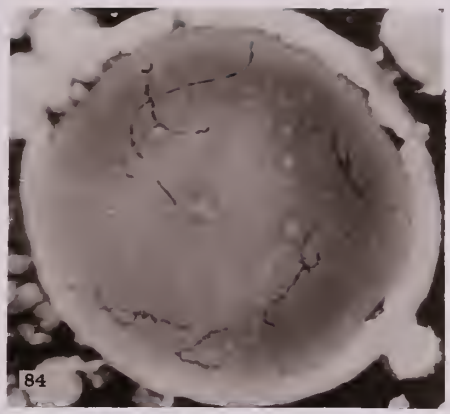
FOOT & STROBELL PHOTOS. Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig.

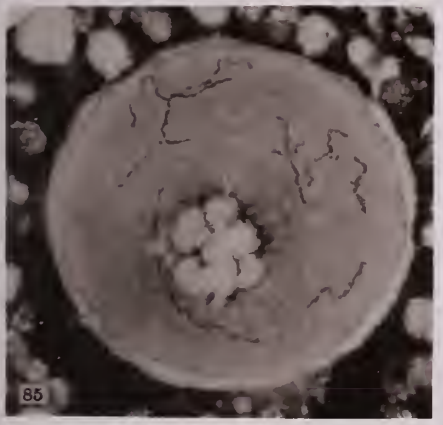


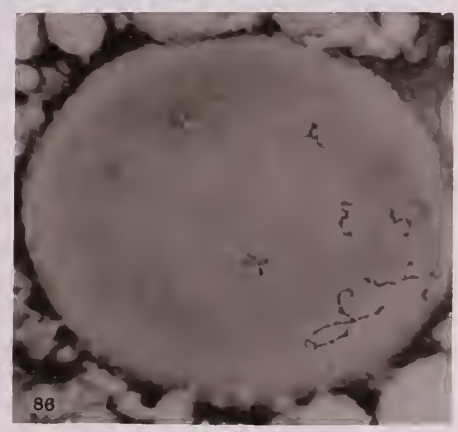
FOOT & STROBELL PHOTOS

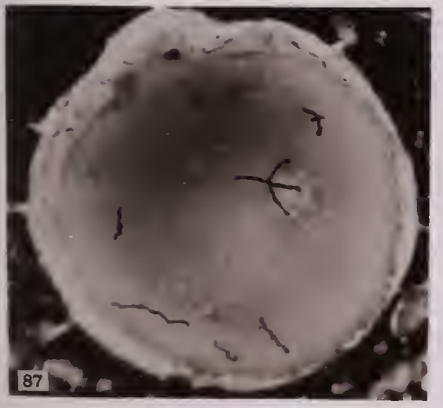
Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig

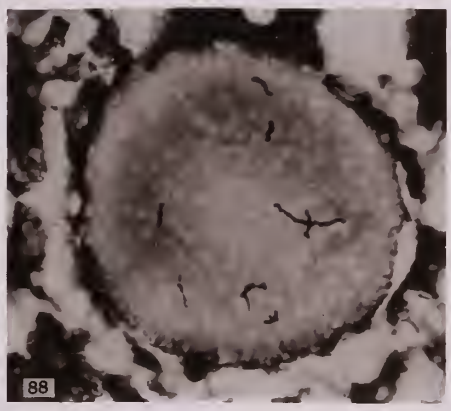












FOOT & STROBELL PHOTOS

Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig

Sur le groupement par paires des chromosomes dans les noyaux diploïdes.

Par

Jean Bonnet.

(Laboratoire de Botanique de la Faculté des Sciences de l'Université de Toulouse.)

Avec planches XXI—XXII et une figure dans le texte.

C'est STRASBURGER qui, en 1905, signala le premier que, dans les noyaux diploïdes, les chromosomes sont groupés par paires. Ce savant est depuis revenu à plusieurs reprises sur ce fait (1907, 1908, 1909). Quelques autres auteurs (SYKES, NÉMEC), ont également figuré des aspects analogues au sujet des chromosomes proprement dits, et d'autres (OVERTON, ROSENBERG, LUNDEGÅRD), au sujet des prochromosomes, qui, eux aussi, apparaîtraient groupés par paires dans les noyaux somatiques quiescents.

Ces apparences sont très importantes, à cause de la signification théorique que leur attribue STRASBURGER. D'après ce savant en effet les deux chromosomes qui constituent chaque paire ne seraient pas deux segments chromatiques quelconques; mais, partisan de la théorie de l'individualité et du monopole héréditaire des chromosomes, STRASBURGER les envisage comme deux chromosomes provenant, l'un du père, l'autre de la mère, qui se seraient appariés dès le syncaryon du zygote, et subsisteraient ainsi, pour ainsi dire fondus en une unité nouvelle tout en gardant chacun leur entière individualité, à travers toutes les générations nucléaires de l'individu, en se divisant longitudinalement à chaque mitose. Et ces deux chromosomes se retrouveraient à la prophase de la première division réductionnelle associés en un geminus. De là une partie de l'intérêt qui s'attache à ce groupement par paires.

Les objets à chromosomes de taille inégale sont, comme l'a fait remarquer STRASBURGER, susceptibles de fournir à ce sujet des enseigne-

ments précieux. En effet ce dimorphisme y rend plus frappant et plus facile à étudier le groupement par paires; et d'autre part, d'après Strasburger, celles-ci doivent être formées de chromosomes homologues, c'est-à-dire de chromosomes de même taille.

Or on connaît plusieurs végétaux qui possèdent ainsi des chromosomes de deux tailles différentes:

Genres *Yucca* (Max Koernicke, Clemens Müller), *Funkia* (Strasburger, Sykes), *Najas* (Guignard), *Galtonia* (Miyake), *Listera* (Rosenberg), *Oenothera* (Geerts), *Beschornera* (Cl. Müller) etc.

Dans un travail publié en 1909, Clemens Müller a étudié le groupement par paires dans les cellules somatiques de diverses espèces de *Yucca* (*Yucca aloifolia*, *guatemalensis* et *Draconis*).

Le *Yucca* possède deux sortes de chromosomes: — les uns en forme de bâtonnets, de 4 à 7 fois plus longs qu'épais, au nombre constant de 10 dans les cellules somatiques; — les autres, beaucoup plus petits, plus ou moins sphériques, d'après les figures de Cl. Müller, et dont le nombre, très difficile à apprécier exactement, serait de 44 à 46 environ. La présence de ces deux sortes de chromosomes est absolument constante dans toutes les cinèses somatiques, et Max Koernicke a même signalé un pareil dimorphisme chromosomique dans les noyaux haploïdes du sac embryonnaire de *Yucca filamentosa* (1901).

Cl. Müller a fait porter ses recherches sur les racines. On sait en effet que les sommets végétatifs et les méristèmes des jeunes racines fournissent des images karyokinétiques particulièrement claires, très favorables à une étude approfondie; — et, pour avoir encore un plus grand pourcentage de noyaux en division dans ses préparations, il s'adressa à des pieds de *Yucca* qui avaient passé une semaine environ en serre chaude, et sur lesquels la production des jeunes racines s'était donc soudainement accrue.

Or voici d'après Cl. Müller comment les choses se passeraient, lorsque les noyaux se divisent: aux dépens du réseau quiescent on voit se différencier les chromosomes, qui dès le début apparaissent groupés par paires: les gros chromosomes sous forme de filaments qui s'épaississent et se raccourcissent peu à peu, et qui sont en général parallèles et plus ou moins rapprochés deux à deux; — les petits sous forme de granulations également appariées.

Ces chromosomes s'insèrent au fuseau; les petits s'ordonnent suivant une surface circulaire, dans l'étendue de laquelle ils sont plus ou moins serrés, selon les dimensions de la cellule; les gros se disposent à la

périphérie de cette plaque circulaire, radiairement. A vrai dire, on peut observer des cas où l'insertion de certains de ces gros chromosomes est située dans l'intérieur même de la plaque formée par les petits chromosomes, et non pas à sa périphérie; — mais d'après Cl. Müller cette apparence s'expliquerait par ce fait que dans ces cas là les chromosomes n'auraient pas encore acquis leur disposition définitive; — et, d'après lui, lorsque la plaque métaphasique est réellement constituée, ce qui se reconnaît aisément à la division longitudinale qui apparaît alors dans les longs chromosomes, ceux-ci sont tous insérés à sa périphérie.

C'est à ce moment que la disposition par paires des chromosomes serait le plus typique. Tous se divisent longitudinalement, les petits avant les gros, et les moitiés de dédoublement, conservant leur disposition couplée, émigrent vers les pôles du fuseau. A la télophase, les noyaux se reconstituent sans que cette disposition soit disparue, et, comme les gros chromosomes se disposent tous à un même pôle du noyau, les petits occupant le reste de la vésicule nucléaire, les noyaux filles possèdent par rapport à l'axe de la cinèse une polarité très marquée. Et le fait que le groupement par paires peut être suivi dans les télophases jusqu'au moment où les chromosomes disparaissent dans le réseau quiescent explique que, dès le début des prophases, ce groupement soit apparent, si on admet la théorie de l'individualité des chromosomes.

Ainsi donc le *Yucca* montrerait un groupement par paires net des chromosomes, réel pour les petits comme pour les gros, chaque paire étant constituée par deux chromosomes de même taille.

J'ai eu l'occasion d'observer les cinèses somatiques dans les tissus du jeune ovaire de *Yucca gloriosa*, plante très communément cultivée dans les jardins, aux environs de Toulouse. A vrai dire, ce n'est pas là la même espèce que celles qu'a étudiées Cl. Müller, mais la similitude parfaite, quant au nombre et à la disposition des chromosomes, — à part quelques minimes différences de forme, sur lesquelles je reviendrai plus loin —, permettent de penser que dans cette espèce les phénomènes sont absolument les mêmes que dans les *Y. aloifolia*, *Draconis* et *guatemalensis*. D'autre part, tandis que les observations de Cl. Müller se rapportent aux racines, les miennes ont été faites sur les ovaires. Mais ce sont là aussi des tissus jeunes, en voie de croissance active, sans différenciations cellulaires accusées. Le seul inconvénient que présente l'étude de ces tissus ovariens, c'est que les mitoses y sont moins nombreuses que dans les sommets des racines, ce qui oblige à étudier un plus grand nombre

de coupes avant de trouver des figures assez schématiquement orientées pour montrer nettement les rapports des choses.

Les matériaux, fixés au liquide de Flemming, ont été coupés à 4—8 μ d'épaisseur, et colorés par l'hématoxyline de Heidenhain.

De même que les *Yucca* étudiés par Cl. Müller, *Y. gloriosa* possède 10 «megachromosomes» et un grand nombre de «microchromosomes», dont je crois très utopique de chercher à déterminer le nombre exact, mais qui sont au moins au nombre d'une quarantaine. La forme des megachromosomes paraît ici être un peu différente de celle que figure Cl. Müller dans les espèces qu'il a étudiées: tandis en effet que dans celles-ci ce sont des bâtonnets à peine plus épais à une extrémité qu'à l'autre (voir par ex. les figures 11, 12, 21, 25, 27, 33, 40 du travail de Müller), dans *Y. gloriosa* ils ont d'une manière accusée la forme de massues plus ou moins recourbées (figs. 5, 11, 14, 15, 16, 17, 19); leur longueur subit d'ailleurs quelques variations suivant les cellules que l'on envisage.

D'autre part, parmi les microchromosomes, on peut, comme Cl. Müller l'a signalé, observer des variations secondaires de taille. Une remarque que je ferai au sujet de ces microchromosomes, c'est que je ne crois pas qu'ils aient, comme Cl. Müller le figure, une forme sphérique. Une observation approfondie montre qu'ils ont, au moins dans *Yucca gloriosa*, eux aussi la forme de petites massues, et ne diffèrent des megachromosomes que par la taille. Cela est bien visible à la périphérie des plaques équatoriales (v. par ex. les figs. 4, 6, 10, 11, 12, 19).

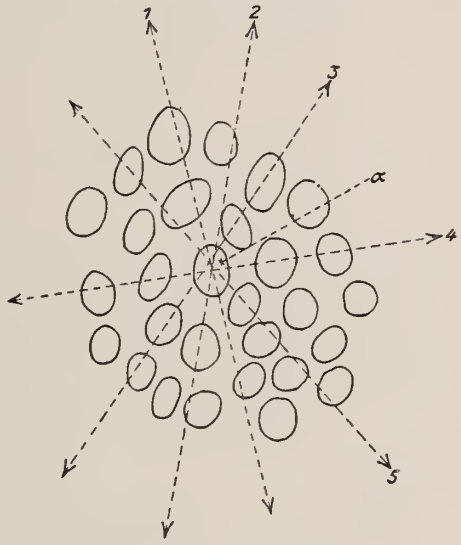
D'autre part, parmi ces petits chromosomes, il s'en présente au moins de deux ou trois tailles différentes; certains sont presque deux fois plus gros que les autres, et paraissent d'ailleurs être en petit nombre (p. ex. chromosomes *a* des figs. 6, 17, 20, 23; — *a* et *b* de la fig. 10; — *a*, *b*, *c* de la fig. 15). Mais, à cause des difficultés de cette étude, je n'ai pas pu décider si ce polymorphisme dans la taille des microchromosomes est une règle générale, et s'il se retrouve dans toutes les karyokinèses.

Quant à la forme sphérique des microchromosomes, telle que la figure Cl. Müller, je la crois une apparence dûe seulement à ce fait qu'ils sont insérés perpendiculairement par rapport à la surface de la plaque équatoriale, en sorte que, dans les sections passant par le plan de celle-ci ou par un plan parallèle, ils apparaissent sous forme de granulations à contour circulaire. Cependant, lorsque la différenciation est poussée assez loin, on peut parfois observer leur forme en massue jusque dans l'intérieur des plaques métaphasiques (figs. 10, 11, 19). Au contraire, lorsque la différenciation est peu avancée, les microchromosomes con-

stituent par leur juxtaposition une plaque compacte plus ou moins fenêtrée (figs. 2, 8), et, dans les préparations normalement différenciées, ils figurent des masses circulaires insérées sur un réseau trabéculaire, formé par leurs prolongements effilés (figs. 5, 6, 9, 13 par ex.).

Pour en venir à la question du groupement par paires, je crois d'abord que dans cette étude il faut laisser entièrement de côté les microchromosomes. Ceux-ci en effet sont par trop nombreux et par trop petits, et leur disposition réelle est trop délicate à étudier dans le détail, pour qu'on puisse espérer en tirer des images bien nettes. Cl. Müller attache une signification particulière à ce sujet à ses figures 35 et 36, qui représentent deux sections, parallèles à l'axe du fuseau, d'une métaphase; mais je ne les crois pas aussi probantes que l'auteur. En effet elles ne se rapportent chacune qu'à un seul plan optique de la coupe, et il se peut très bien que, si l'auteur avait tenu compte des plans situés au-dessus et au-dessous de celui qu'il a dessiné, il eut trouvé d'autres microchromosomes formant des paires tout aussi parfaites que celles qu'il a représentées avec certains au moins de ceux du plan considéré. La figure schématique A du texte en fournit un exemple typique. On voit que, suivant la direction de la section, 1, 2, 3 ou 4, on peut faire entrer le chromosome α dans diverses paires, et on peut répéter la même expérience pour tous ses voisins. L'examen des vues polaires de métaphases que donne Cl. Müller et de celles que je donne moi-même fournissent d'ailleurs des preuves irréfutables en faveur de cette manière de voir. Et d'ailleurs Cl. Müller, qui dans ces vues polaires indique par des lettres ou des chiffres la manière dont il groupe par paires les megachromosomes, ne le fait pas pour les petits, ce qui montre que lui-même reconnaît la difficulté, pour ne pas dire l'impossibilité, qu'il y a à le faire dans ces figures, les seules, je le répète, qui soient susceptibles de fournir des images acceptables et de véritables preuves.

Figure A.



Les stades spirématiques ne me semblent pas pouvoir fournir non plus des images significatives à ce point de vue. Il n'en est pas ici en effet comme dans les objets à prochromosomes, où ceux-ci sont uniquement répartis à la périphérie de la vésicule nucléaire, contre la membrane, et où par conséquent la superposition de plusieurs plans ne vient pas rendre difficile l'interprétation des images; — et si, d'autre part, on ne tient compte que d'un plan de la préparation, on reste sous le coup de la même objection que j'ai faite aux coupes longitudinales que donne Cl. Müller. D'ailleurs, même en ne tenant compte que d'un seul plan, on est dans un très grand embarras pour la manière d'accoupler les microchromosomes. Ainsi la figure 7 représente un fond de noyau, très favorable à cette étude. Les petits chromosomes se trouvent dans 2 ou 3 plans optiques tout au plus, et ne se recouvrent pas les uns les autres. Or, comment y former les couples? De quelque manière qu'on les constitue, on tombe dans l'arbitraire.

Je crois donc qu'il faut absolument renoncer à chercher à mettre en évidence le groupement par paires au sujet des petits chromosomes, qui ne se prêtent en rien à des analyses aussi subtiles.

Bornons-nous donc à l'étude de la disposition des megachromosomes. Ici encore, quoique les phénomènes soient incomparablement plus faciles à analyser, je crois qu'il faut se restreindre à l'étude des vues polaires. En effet, en interprétant des vues de profil, on peut, malgré toute la prudence nécessaire, rapprocher, particulièrement aux extrémités des sections, des chromosomes qui en réalité sont situés dans des plans éloignés.

Contrairement à l'opinion de Cl. Müller, je ne crois pas que, dans les métaphases définitivement constituées, et dans lesquelles les chromosomes ont pris leur insertion typique, les megachromosomes soient toujours répartis à la périphérie, en disposition radiaire. Etant donné que, dans le *Yucca*, la division longitudinale des chromosomes se fait seulement à la métaphase, alors qu'ils sont insérés dans leur position définitive, je crois que, dans des plaques métaphasiques telles que celles que représentent les figures 4, 10, 12, 21, 22, 24, les megachromosomes dédoublés qui y apparaissent possèdent leur insertion définitive. Et cependant cetains de ces chromosomes (1 et 2 des figures 4, 21, 22; — 1, 2, 3 et 4 de la fig. 10, par ex.) présentent une insertion interne très nette. Il en est de même dans plusieurs figures de Cl. Müller (figs. 26, 27, etc.).

D'ailleurs une mise au point soignée m'a montré que dans tous les cas signalés ci-dessus les chromosomes internes étaient réellement insérés au niveau des microchromosomes, sur le même plan qu'eux.

Inversement, des figures comme les figures 13 et 19, où tous les megachromosomes sont insérés à la périphérie, m'ont paru relativement rares, je dirais presque exceptionnelles.

Mais, malgré ces restrictions, la majeure partie des chromosomes sont toujours insérés sur la périphérie de la plaque métaphasique, et ce n'est que très rarement que le nombre de ceux qui prennent insertion sur son étendue même est de 3 ou 4.

Quoi qu'il en soit, Cl. Müller croit que les megachromosomes sont groupés par paires. Les figures qu'il donne ne me paraissent pas très démonstratives; j'y reviendrai plus loin. — Mais en tout cas j'ai observé des aspects tout aussi typiques que ceux qu'il dessine: figures 11, 14, 15, 22, 24, dans lesquelles chacun des groupes de 2 chromosomes que j'ai réunis sous une même lettre ou sous un même chiffre paraît constituer une paire.

Cependant je crois que ce groupement par paires n'est pas l'expression de la réalité, mais qu'il ne constitue qu'une apparence dûe au hasard.

Remarquons d'abord que, même d'après les figures de Cl. Müller, et aussi d'après les miennes, ce groupement par paires est peu accusé, et en tout cas beaucoup moins net que celui que Strasburger et Němec ont figuré chez d'autres végétaux, et où il y a un tel rapprochement des deux chromosomes constituant une même paire que celles-ci offrent un aspect presque comparable à celui des gemini réductionnels.

Un raisonnement très simple permet de se rendre compte aisément de cette disposition des chromosomes par petit groupes, qui peut faire penser à une réelle disposition par paires. Les megachromosomes ont une longueur très appréciable, et le diamètre de la plaque métaphasique est égal à peine à une fois ou deux cette longueur. Par conséquent les dimensions de cette plaque sont très faibles par rapport aux dimensions longitudinales des megachromosomes. D'autre part ceux-ci sont orientés de telle sorte que ceux qui sont insérés sur la périphérie de la plaque, — et c'est, je l'ai dit, toujours le plus grand nombre —, sont situés dans le plan même de la plaque. Or la mécanique cellulaire n'a pas une rigidité mathématique, et d'autre part la distance de $^1/_{10}$ de circonférence qui séparerait deux chromosomes voisins, si leur disposition était absolument régulière, est faible par rapport à leur longueur. De plus les chromosomes ne divergent pas à partir de leur point d'insertion dans un sens rigoureusement radiaire, mais sont souvent par rapport à cette direction plus ou moins déjetés latéralement. Il suffit donc d'un très léger rapprochement des points d'insertion de deux chromosomes, surtout s'ils sont inclinés par rapport

au rayon de la plaque équatoriale de telle sorte que leurs extrémités distales convergent l'une vers l'autre, pour fournir l'apparence d'un couple. C'est à ce phénomène que je rapporte par exemple la paire *b* de la figure 27 et la paire *b* de la figure 29 de Cl. Müller, pour prendre des cas particulièrement évidents.

Les mêmes phénomènes peuvent se produire pour les megachromosomes insérés, non plus à la périphérie, mais à l'intérieur de la plaque métaphasique. Le rapprochement de deux chromosomes à insertion interne donnera naissance à des pseudo-couples internes, tels que le couple 1—2 de la figure 22, le couple 3 de la figure 15, 3 de la figure 11; — et, dans les dessins de Cl. Müller, 5 de la figure 26, *e* de la figure 20.

Si au contaire un megachromosome à insertion interne se rapproche d'un autre à insertion périphérique, on obtiendra des couples tels que les couples 4 de la fig. 26, *e* de la fig. 33, *d* de la fig. 24 de Cl. Müller.

Justifions cette manière de voir.

1° Si réellement les megachromosomes du *Yucca* étaient disposés par paires, les deux constituants d'un même couple devraient être, non seulement très proches l'un de l'autre, mais parallèles sur toute leur longueur, et avoir leurs points d'insertion à la même distance que leurs extrémités distales. Ce sont des rapports de ce genre que montrent, par exemple, sinon tous, du moins la très grande majorité des constituants des couples dans les figures de la première planche du mémoire de Strasburger (1907) —; et, dans les cas où ces caractères de parallélisme ne sont pas réalisés, les chromosomes d'une même paire offrent des dispositions si remarquables et si symétriques, par exemple en V à branches plus ou moins courbes, mais exactement semblables l'une à l'autre et au contact par une extrémité, qu'on ne saurait mettre en doute leur réel appariement.

Or, dans le *Yucca*, ces faits, qui sont la règle dans le Pois, d'après les figures déjà citées de Strasburger, sont l'exception, et je renvoie pour s'en convaincre aux figures de Clemens Müller elles-mêmes. Par exemple, dans la figure 28, 2 paires seulement réalisent ces conditions; une seule dans la figure 27; aucune dans la figure 18.

Et d'autre part il arrive souvent que les chromosomes d'une même paire sont très éloignés l'un de l'autre, et beaucoup plus proches des paires voisines que de leur partenaire. Cela a lieu pour la paire *d* de la fig. 33, *e* de la fig. 32, *e* de la fig. 31, *e* de la fig. 27, *d* de la fig. 25 a, etc. Des remarques tout à fait analogues pourraient être faites sur mes propres figures.

2° La manière dont Cl. Müller a constitué ses couples de megachromosomes me paraît dans beaucoup de cas quelque peu arbitraire.

Ainsi, dans la figure 26, il réunit sous le numéro 5 deux chromosomes dont les insertions sont très éloignées. Et il semblerait beaucoup plus logique de faire une paire avec le chromosome inférieur de la paire 5 et le chromosome droit de la paire 1. — De même pour les chromosomes droit de la paire *e* et gauche de la paire *a* de la figure 18; — gauche de *e* et supérieur de *d* de la même figure; — droit de *e* et gauche de *a* de la figure 34; — inférieur de *a* et supérieur de *e* de la figure 32; — droit de *b* et supérieur de *e* de la figure 31, etc.

3° On pourrait objecter que, si la raison par laquelle je pense expliquer la formation des couples était juste, on devrait observer, non pas seulement des groupes de deux, mais aussi de 3, 4 chromosomes et davantage.

Or c'est justement ce qui s'observe fréquemment:

a) Groupes de 3 megachromosomes: Ex: chromosomes 1, 2, 3 (figs. 13, 14, 16, 19, 23); — chromosomes 1, 2, 3 — et 4, 5, 6 (fig. 18); — chromosomes 3, 4, 5 (fig. 4).

Des remarques analogues peuvent être faites sur les figures de Cl. Müller: paire *d* et chromosome gauche de *e* (fig. 17); — paire 5 et chromosome supérieur de la paire 4 (fig. 19); — paire 3 et chromosome supérieur de la paire 4 (fig. 23); — paire 4 et chromosome droit de 3 (fig. 28); — paire *d* et chromosome inférieur de *e* (fig. 31), etc.

b) Des groupes de plus de 3 chromosomes ne sont pas rares non plus; en laissant de côté les groupes de 4 et de 6, que l'on pourrait rapporter à deux ou trois paires très proches, on trouve des groupes de 5: chromosomes 1, 2, 3, 4, 5 (figs. 5, 17); — chromosomes 4, 5, 6, 7, 8 (fig. 13).

c) Quant à des groupes formés d'un nombre plus élevé de constituants, je n'en ai pas observé, et cela tient certainement à des raisons de mécanique cellulaire. Celle-ci n'est pas parfaite, mais elle est approchée; — et, sans doute pour des raisons d'équilibre, de compensation des forces, elle ne répartit pas tous les megachromosomes à un pôle de la plaque métaphasique, en laissant dégarni le reste de son pourtour, mais elle les répand, d'une manière plus ou moins uniforme, sur toute sa périphérie.

d) Mais on obtient cependant des groupements de chromosomes qui sont incompatibles avec la théorie des paires: 3, 3, 4 (fig. 19); 5, 3, 2 (figs. 5, 13); — etc.

e) Et corrélativement on observe souvent des chromosomes isolés, auxquels il paraît impossible de trouver un partenaire: chromosomes 7 (fig. 18); 4 (fig. 23); 5, 6 et 7 (fig. 10); 1 (fig. 2); 1 et 2 (fig. 6); 1 (fig. 9); 1 et 2 (fig. 12).

De même dans les figures de Cl. Müller: le chromosome supérieur de la paire *e* (fig. 17), inférieur de 5 (fig. 22), inférieur de *e* (fig. 29), droit de *c* (fig. 27), ne paraissent-ils pas indûment réunis à leur partenaire?

f) Le fait que les megachromosomes se segmentent longitudinalement à la métaphase sans présenter de déplacements ni de changements de position explique la manière d'être des anaphases et des télophases. Et le fait que ainsi les megachromosomes se perdent peu à peu dans le réseau nucléaire tout en conservant leur position originelle les uns par rapport aux autres explique parfaitement l'aspect des prophases, telles que les montrent ma figure 1 et les figures de Cl. Müller.

En résumé, les figures que donne Cl. Müller en faveur de sa manière de voir ne me paraissent nullement démonstratives. Si toutes montraient un rapprochement des chromosomes deux à deux aussi accentué qu'il l'est pour 8 d'entre eux dans la figure 25a, elles seraient réellement probantes. Mais il est loin d'en être ainsi, et par suite le cas entièrement isolé de cette figure me paraît devoir s'expliquer par une simple exagération, dûe au hasard, de ce rapprochement.

D'autre part je pense avoir montré, par la discussion de mes figures et de celles de Cl. Müller, la justesse des raisons théoriques par lesquelles d'après moi s'expliquent ces apparences de couples.

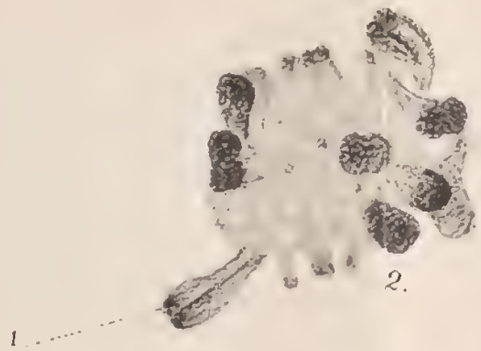
Bref, je pense que, dans le *Yucca*, les chromosomes ne sont pas réellement groupés par paires, mais qu'il n'y a là qu'une apparence, dûe à ce que la mécanique cellulaire est approximative, mais non pas rigoureuse.

Je suis loin d'ailleurs de vouloir conclure à une portée générale de cette conclusion négative, en ce sens que je ne veux pas l'étendre à d'autres objets que le *Yucca*. En particulier, comme je l'ai déjà fait remarquer, certaines figures de Strasburger et de Nemec, — pour m'en tenir aux noyaux diploïdes et aux végétaux, — me paraissent ne pouvoir être interprétées que dans le sens d'un réel groupement par paires des chromosomes; dans les cas en question en effet, l'accouplement est très net et fournit des apparences pour ainsi dire comparables à des gemini réductionnels.

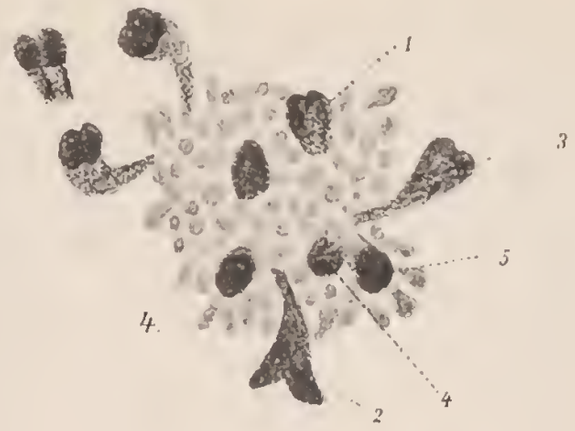
Mais à ce point de vue le *Yucca* ne constitue pas un objet clair, et la seule remarque d'une portée générale que je tirerai de cette discussion sera qu'il faut apporter une prudence extrême dans l'interprétation des images que nous fournit le microscope. surtout lorsque ces images apparaissent comme tant soit peu douteuses.

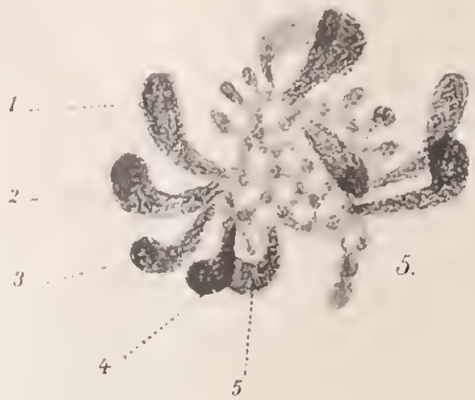
Toulouse, Faculté des Sciences, 8 Avril 1911.

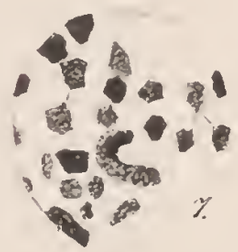
1.



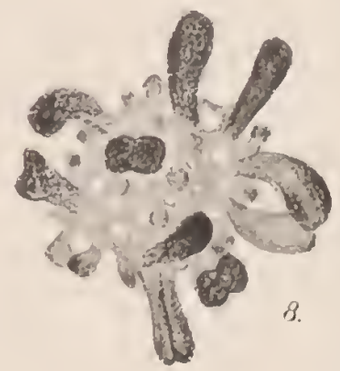
3.



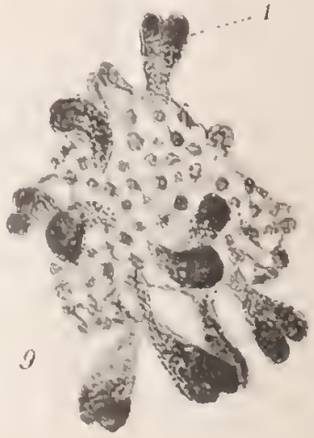


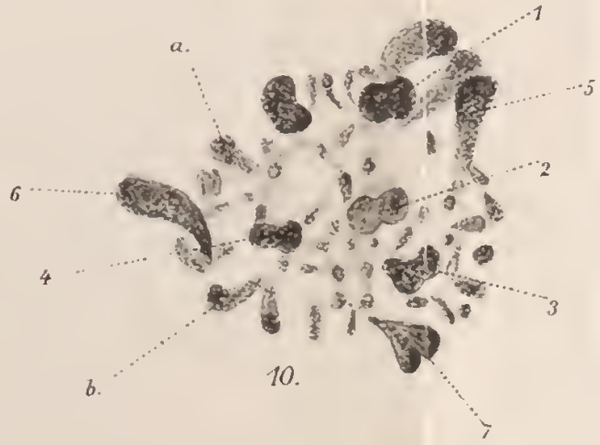


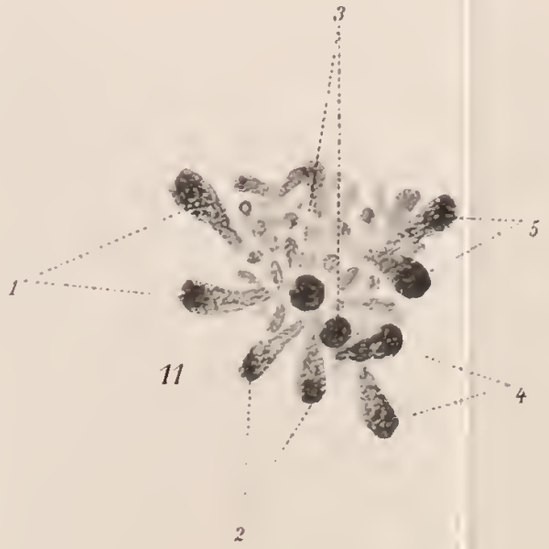
7.



8.







Bonnet

Verlag v Wilhelm Engelmann, Leipzig

Buchdruck v C G Roder, G m b H, Leipzig.

G Arnold del

Barratt u Arnold

Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig.

Lith Anst v Johannes Arndt, Jena.

Index Bibliographique.

1. Bonnet, J. Sur le groupement par paires des chromosomes. Comptes-Rendus des Séances Soc. Hist. Naturelle de Toulouse. Mercredi 5 Avril 1911.
2. Koernicke, M. Studien an Embryosackmutterzellen. Sitzungsber. d. niederrhein. Gesellsch. f. Natur- und Heilkunde zu Bonn. 4. III. 1901.
3. Müller, Cl. Über karyokinetische Bilder in den Wurzelspitzen von Yucca. Jahrb. wissensch. Botanik. Bd. XLVII. 1909.
4. Němec, B. Das Problem der Befruchtungsvorgänge und andere zytologische Fragen. Berlin 1910.
5. Strasburger, E. Die stofflichen Grundlagen der Vererbung im organischen Reich. Jena 1905.
6. —— Über die Individualität der Chromosomen und die Pfropfhybridenfrage. Jahrb. wissensch. Botanik. Bd. XLIV. 1907.
7. —— Chromosomenzahlen, Plasmastrukturen, Vererbungsträger und Reduktionsteilung. Jahrb. wiss. Botanik. Bd. XLV. 1908.
8. —— Zeitpunkt der Bestimmung des Geschlechts, Apogamie, Parthenogenesis und Reduktionsteilung. Histolog. Beiträge. Bd. VII. 1909.
9. Sykes, M. G. Nuclear Division in Funkia. Archiv für Zellforschung. Bd. I. 1908.
10. —— Note on the number of the Somatic Chromosomes in Funkia. Arch. f. Zellf. Bd. I. 1908.

Explication des figures.

Planches XXI—XXII.

Toutes les figures ont été dessinées à l'aide de l'appareil de Abbe-Zeiss, à la hauteur de la table de travail. Grossissement: objectif apochr. imm. homog. 1 mm, 5 de Zeiss + ocul. Comp. 12 pour la figure 7. Objectif-apochr. imm. homog. 1 mm, 5 de Zeiss + ocul. Comp. 18 pour toutes les autres figures.

Cell Changes in the Testis due to X Rays.

By

J. O. Wakelin Barratt, D. Sc., and **G. Arnold,** M. Sc.

From the Cancer Research Laboratory, University of Liverpool.
(Mrs. Sutton Timmis Memorial.)

With plates XXIII—XXIV.

Contents.

Page

Introduction 243

Literature 244

Method 249

Ultimate changes produced in the testis by X rays . . . 250

Normal changes taking place in the seminiferous tubules of the rat: Formation of spermatozoa by the cells of the seminiferous tubules 251

Degeneration of seminal cells 255

Changes produced in the testis by the action of X rays:

Introduction 257

Changes in the interstitial tissue 258

Changes in the cells of the seminiferous tubules: cells of Sertoli 258

Spermatogonia 258

Spermatocytes of the first order 259

Spermatocytes of the second order 261

Multinucleate cells 261

Multivacuolate cell masses 262

Spermatids 262

Spermatozoa 263

Changes observed in the various cell types, considered in respect of individual cell structures or cell products: Cytoplasm 263

Nucleus 264

Nucleolus 265

Page
Intranuclear body 265
Chromatoid body, archoplasmic vesicle, archoplasm, centrosomes, vacuoles 265
Fat globules 268
Débris 268
Characters of the changes in the cells of the testis, resulting from the action of X rays, considered from the physiological standpoint: Introduction. 268
Disturbance of cell division 269
Disturbance of cell development 271
Disturbance of cell nutrition 271
Description of the Illustrations 271

Introduction.

The injuries produced by the action of X rays upon living tissues present a peculiar interest, owing to the circumstance that such injury when inflicted upon the surface epithelium of man, has, in a number of cases been followed at a later period by epithelioma in the area of injury. In consequence of the interest thus aroused the changes resulting from the application of X rays have been studied by various observers, especially in respect of the skin, the spleen, and the testis, the investigation being in part undertaken with the object of determining the degree to which different tissues are liable to injury by these rays, and the working conditions under which such injuries are likely to occur in practice, so that thereby the limitations of their safe employment as a therapeutic measure may be ascertained. The study of the resulting structural changes has, however, been largely carried out under the restrictions and limitations incidental to the use of material obtained from injuries produced unintentionally or accidentally during the employment of X rays. Their action upon living tissues has also been studied in experimental lesions, but still further investigation is necessary in order to determine the general principles underlying their action, and in this connection it is essential that full advantage should be taken of the great advances, which, in recent years have been made in the technique of cytological research. As a further study of the changes induced in the testis by X rays appeared to be likely to be exceptionally fruitful, it was determined to undertake research in the first instance in this direction. Probably in no other organ do cells present so large a series of changes in the course of their growth as do those of the testis, and it is an exceptionally fortunate circumstance that the various stages of

growth of the cells of the seminiferous tubules have been studied with a degree of thoroughness and precision of detail, which is unequalled in the case of any other kind of cell. In carrying out this investigation it was decided to direct attention almost exclusively to the direct effect of the rays, not making more than a brief reference to such non-specific changes of a purely reparative character as may be produced at a later date in the connective tissue framework of the organ.

The animal selected for the purpose of this research was the rat, it having been found in the course of some preliminary experiments that this rodent is more readily dealt with and more easily kept alive for long periods of time than the other animals, chiefly rabbits and guinea-pigs, which were employed in the earlier period of investigation. The choice of the rat was also in part determined by the fact that the normal changes occurring in the seminiferous tubule have been somewhat exhaustively studied in this animal (compare p. 246).

Literature.

The literature of the changes produced in the testis by the action of X rays is very scanty. The earliest investigations were made in 1903 by Albers-Schönberg[1]). Daily exposures of rabbits and guinea-pigs to the action of X rays for periods of 15 to 30 minutes were given. The skin of the rabbit was exposed at a distance of 17 cm from the X ray tube, a 24 inch coil with a slow working mercury break being used. The tubes were moderately soft. Exposures amounting to 195 to 377 minutes produced sterility without any change in the sexual potency. The sterility was due to death of the spermatozoa (the contents of the seminiferous tubules being free from spermatozoa) and a condition of azoospermia with atrophy of the testis resulted.

Frieben[2]) found that after the repeated action of X rays the testes of rabbits and guinea-pigs became markedly diminished in size. reaching from one half to one third of their normal size. No other macroscopic change was observed. Upon microscopic examination the atrophy of the testis was found to be due to disappearance of the epithelium of the seminiferous tubules. Instead of the normal epithelial content, consisting of an abundance of sexual cells in various stages of development,

[1]) Albers-Schönberg. Über eine bisher unbekannte Wirkung der Röntgenstrahlen auf den Organismus der Tiere. Münchener med. Wochenschrift 1903. S. 1859.

[2]) Frieben. Hodenveränderungen bei Tieren nach Röntgenbestrahlungen. Münchener med. Wochenschrift 1903. S. 2295.

large spaces were seen bounded by a narrow rim of shrunken cells, whose protoplasm appeared often to have undergone mucous degeneration. No spermatogenesis was anywhere to be seen. No inflammatory process took place, the supporting framework of the testis being unaltered. The action of X rays is therefore limited to the production of a degenerative process affecting the cells of the seminiferous tubules.

A year later PHILIPP[1]) reported two similar observations made upon man, which, however, are not comparable in point of completeness to those carried out upon animals. The first patient submitted to daily exposures of 10 to 15 minutes duration to X rays for 30 days. Repeated examination failed to reveal any change in the sperm, which contained normal spermatozoa unchanged in number or form and showed no signs of nuclear degeneration or pigmentation. At the end of six months a few drops of semen were extracted with the aid of a hypodermic needle from the testis and no spermatozoa were found. The testes atrophied, but sexual power remained normal. In the second case X ray exposure over the perinaeum was practised for the treatment of intertrigo and pruritus ani. The latter was cured by a daily exposure of 10 minutes, 195 minutes exposure in all being given. Seven months later a small quantity of sperm was examined, and no trace of spermatozoa was found.

BROWN and OSGOOD[2]) have also reported a number of cases of azoospermia or oligonecrospermia occurring in X ray operators.

The action of X rays upon the testis has been further studied by BERGONIÉ and TRIBONDEAU[3]), REGAUD[4]), and HARVEY[5]). Of these researches, however, only those of BERGONIÉ and TRIBONDEAU and of REGAUD, which were carried out upon rats, need be considered here.

---

[1]) PHILIPP. Quoted by Osler & Mc Crae, System of Medicine. London 1907. Vol. I. p. 61.

[2]) BROWN and OSGOOD. American Journ. of Surgery. 1905.

[3]) BERGONIÉ and TRIBONDEAU. 1. Action des rayons X sur le testicule du rat blanc. Comptes rendus de la Société de Biologie 1904. T. II. p. 400.

2. Action des rayons X sur le testicule du rat blanc. Ibid. p. 592.

3. Action des rayons X sur les spermatozoides de l'homme. Ibid. p. 595.

4. L'Aspermatogénèse expérimentale complète obtenue par les rayons X est-elle définitive. Ibid. 1905. T. I. p. 678. Cp. also TRIBONDEAU, De l'influence des rayons X sur la structure histologique du testicule (*M. rattus*). Anat. 1906. 8. Réun. p. 80.

[4]) REGAUD. Action des Rayons de RÖNTGEN sur l'épithélium séminal. Application des resultats à certains problèmes concernant la structure et les fonctions de cet épithélium. Anat. 1907. 9. Réun. p. 30.

[5]) HARVEY. On the pathological effects of RÖNTGEN rays on animal tissues. Journal of Pathology and Bacteriology. 1908. Vol. XII. p. 549.

In their first communication Bergonié and Tribondeau made use of an intensity of X radiation represented by four Holzknecht units, the distance of the animal from the anticathode being 15 cm. A series of exposures of 2 to 10 minutes duration was given at intervals of 1 to 8 days. Macroscopically most of the testes were unaltered in their aspect; some appear to have been softened and to have become more translucent in appearance.

In their second paper Bergonié and Tribondeau describe the microscopical changes occurring in the testes of the rats experimented upon. Examined immediately after the conclusion of the exposure to X rays, commencing disintegration of the seminiferous epithelium was met with, and as this had advanced unequally in different tubules it was easy to recognize the various stages of its progress. Karyokinetic figures had everywhere disappeared. Large spermatocytes were rare; where they persisted their chromatin filament became fragmented into microchromosomes, which were at first arranged in a stippled spireme, then became scattered, lost their colour and finally disappeared (karyorrhexis). The large spermatocytes rarely became destroyed by pycnosis. The small spermatocytes, spermatogonia, and spermatids persisted longer, their nuclei undergoing pycnosis. In the spermatocytes and spermatogonia chromatic concentration occurred, which in the spermatids was at first annular. The pycnotic nuclei became fragmented and then underwent liquefaction. In the different cells, chromatoid masses, intra- and extra-nuclear were frequently observed. The spermatozoa disappeared more slowly, but finally adhered together and became dissolved. The cells of Sertoli persisted and their nuclei, which remained intact and were easily identified, underwent amitotic division and invaded the lumen of the seminiferous tubule. In tubules which had been severely affected, in which advanced destruction had ocurred, the cells of Sertoli were themselves altered, staining diffusely, then finally fading and disappearing. When the testes were examined a month and a half after the conclusion of the exposure to X rays the degeneration had become complete. All trace of dead cells had disappeared, and already signs of regeneration could be recognized, viz: abundant amitotic division of the cells of Sertoli in the aspermatogenous tubules, karyokinesis in the spermatogenous tubules. From this description it follows that the action of X rays is not to cause a simple desquamation of the seminal epithelium followed by its expulsion, but to produce chemical and structural alteration followed by resorption in situ. The nutritive syncytium remains for a long time

hollowed into spaces, filled with chromatic débris, subsequently becoming completely empty.

In their third communication Bergonié and Tribondeau describe a further series of experiments in which they examined the action of X rays upon human semen preserved under a coverslip and kept at 39° C, rays being employed whose intensity corresponded to six units on the scale of Holzknecht. The spermatozoa were placed at a distance of 15 cm from the anticathode. The motility of the spermatozoa was however unaltered even after 30 minutes exposure.

In their fourth research Bergonié and Tribondeau, who subsequently were able to obtain aspermatogenesis as a result of a single exposure to the action of X rays, submitted a series of young male white rats to such rays for one hour (twelve applications at the rate of three per week; distance of anticathode from the skin 15 cm). A month after the last exposure to X rays the testes on macroscopic examination presented translucence of the surface layer, due to partial dissolution of the parenchyma. On microscopic examination the volume of the tubules was diminished, many tubules were full and hypertrophy of the interstitial substance had occurred. No mitoses were seen, but persistence of the cells of Sertoli was observed. At the end of two to three months the peripheral semiliquid layer of the testes just described had disappeared, the testes were smaller and lighter, markedly reddened and softened, and microscopically were in the same condition at the end of one month. The tubules were small and often full. The interstitial substance was thickened. The seminal epithelium had remained aspermatogenous; only the nuclei of the cells of Sertoli were visible. The latter were voluminous, clear and rounded at the base of the epithelial layer; they became smaller, diffusely stained and angular as they receded from the basement membrane of the tubule. Their number was considerable, in places they were disposed in rows. They presented very frequently linear folds (incisures rectilignes). They became destroyed chiefly by pycnosis. They were everywhere embedded in protoplasm, the limits of which were not well defined, the edges of the cytoplasm being ragged. The walls of the blood vessels, which were congested, were markedly thickened. These changes the authors believe to be definitive, that is to say, they regard aspermatogenesis produced experimentally in this form as being incapable of recovery. They further conclude that these experiments throw a new light upon the functions of the cells of Sertoli. The latter cells can be isolated by the action of X rays, preserving their integrity and continuing to produce their fatty secretion. The authors conclude: 1. that the cells

of Sertoli divide amitotically. This is shown by the frequency of nuclear folds, the complete absence of karyokineses and the considerable increase in the number of the nuclei; 2. that the protoplasm surrounding the nuclei of the cells of Sertoli, although disposed in a syncytium belongs to these nuclei because it persists around them a considerable time after the disappearance of all other cells; and 3. that the nuclei of the cells of Sertoli cannot give rise to nuclei other than those of foot cells. They are incapable of producing spermatogonia from which spermatocytes, spermatids and spermatozoa arise. In consequence the theory of the duality of composition of the seminal gland is inexact. The seminal epithelium includes two orders of cells: a) the spermatogonia and b) nutritive cells, which latter are the cells of Sertoli.

Regaud[1]) repeated the observations of Bergonié and Tribondeau. He found that in the neighbourhood of the anticathode the cells of the sexual layers, with the exception of the spermatocytes of the second order, spermatids and spermatozoa, were killed. Farther from the anticathode the spermatocytes were not killed, but spermatogenesis ceased and did not recommence for six to seven weeks. The cells of Sertoli were not attacked by the X rays. From these results the author concludes that there is no relation between the cells of Sertoli and sexual cells. The spermatogemmen of La Valette are not normally present. The syncytium is not an intercellular substance with included degenerative nuclei, but a living and persistent tissue. Regaud, in opposition to Benda[2]) concludes that the cells of Sertoli have everywhere formed a syncytium. In opposition to Loisel[3]) and Tribondeau he regards his experiments as confirmatory of the nutritive, secretory and phagocytic properties attributed to the syncytium; a copulation between spermatids and syncytium (synphorese, Benda) does not occur. In the grouping of spermatozoa into bundles, lateral pressure plays no part.

---

[1]) Loc. cit. Also Origine, renouvellement et structure des spermatogonies chez le rat, Verh. Anat. Ges. 1899. 13. Vers. S. 42. Sur la morphologie de la cellule de Sertoli et sur son rôle dans la spermatogénèse chez les mammifères. C. R. Ass. Anat. 1899. 1. Session. p. 21. Cp. K. Peter, Die Bedeutung der Nährzelle im Hoden. Arch. mikr. Anat. 1898. Bd. LIII. S. 180.

[2]) Benda. Über die Spermatogenese der Vertebraten und höherer Evertebraten. 1. Teil. Über die vegetativen Geschlechtszellen. Arch. Anat. Phys. Phys. Abt. 1898. S. 385.

[3]) Loisel. Les graisses du testicule chez quelques sauropsides. C. R. Soc. Biol. Paris 1903. T. LV. p. 826. Les graisses du testicule chez quelques mammifères. Ibid. p. 1009. Elaboration graisseuse périodique dans le testicule des oiseaux. C. R. Ass. Anat. 1903. 5. Session. p. 204. Sur la sécrétion interne du testicule et en particulier sur celle de la cellule de Sertoli. Bibl. Anat. Paris 1903. T. II. p. 169.

The hypothesis that the cells of SERTOLI have a nutritive and secretory function is compatible with and suggested by the structural disposition of the cells of the seminiferous tubules. No direct evidence of such nutritive function is however obtainable, nor has any secretion directly attributable to the activity of these cells up to the present been collected from the seminiferous tubules. A knowledge of the function of these cells is essential to a correct interpretation of the mechanism of production of the changes in the germinal cells following upon the application of X rays.

Method.

For the purpose of experiment full grown male rats with large testes were used.

The mode of application of X rays was as follows. The animal was laid upon its back below the X ray tube, the region of the testes being 15 cm distant from the anticathode. The rays acted upon this region exclusively, the rest of the body of the animal being protected by means of a shield of lead sheeting 1,5 mm in thickness. A mercury interruptor making from 1200 to 3000 breaks per minute was employed. The primary current ranged from three to seven amperes. The coil employed gave a 12 inch spark and was provided with a spark gap. The X ray tube which was used was of moderate hardness and was water cooled. The current in the secondary circuit was usually 0,6 to 0,7 milliamperes, the value of fifteen minutes exposure to the rays being ordinarily one unit on the scale of SABOURAUD. The weakest application employed was about a quarter of a unit (15 minutes exposure), the strongest was twenty units (two exposures of 65 minutes each on the first day, repeated on the second day).

The following was the procedure employed in examining the condition of the testes. Immediately after the animal had been killed the testes were removed and portions of the same fixed in FLEMMING's solution (strong) for twelve to eighteen hours. These were then dehydrated in gradually increasing strengths of alcohol and, after passing through cedar wood oil, embedded in paraffin and sectioned.

The sections were stained: 1. by HEIDENHAIN's iron alum haematoxylin method; and 2. with basic fuchsin, methylene blue, and orange G. In carrying out the latter procedure the sections were put for 30 minutes into a 0,5% solution of basic fuchsin in 70% alcohol, containing 0,1% of anilin and 0,1% of ammonia. The excess of stain was removed in running water, after which the sections were immersed in a 4% aqueous

solution of methylene blue for 30 to 60 minutes, rinsed in water, passed through a series of alcoholic liquids of increasing strength and finally put into absolute alcohol. They were next placed for about two minutes in clove oil containing about 0,1% of orange G, after which they were transferred to xylol and finally mounted in canada balsam.

Ultimate changes produced in the testis by X rays.

The end result of the application, in sufficient amount, of X rays to the testis is to cause profound changes. the seminal cells normally seen disappearing completely (Fig. 30). No open central area is seen in the seminiferous tubules, which are filled with shreddy material, made up of ragged strands of lightly staining substance arranged perpendicularly to the basement membrane and therefore directed more or less radially. These strands, which are more marked near the centre of the tubule, becoming less well defined towards the basement membrane, are now usually regarded as representing the cytoplasm of the numerous large Sertolian nuclei which are seen disposed chiefly near the basement membrane. Between the strands are empty spaces in which a few masses of fatty material of more or less globular shape and varying size are met with. These are similar to the masses seen in what will next be described as the penultimate stage, and will therefore not be further referred to at present. The basement membrane is readily seen and appears to be normal in aspect.

Viewed under a higher magnification the shreddy material above referred to, which stains with acid dyes, exhibits much diversity of aspect, for the most part arranged in the form of thin sheets, some short, others extending from the basement membrane nearly to the centre of the tubule. Although most of the strands are disposed radially, some are irregularly arranged, forming a coarse meshwork. The material of which the strands are composed can generally be recognized to be finely granular in aspect. The nuclei, which have a sharply defined nuclear membrane, present chromatin which is evenly distributed in the form of extremely fine granules throughout its substance (Fig. 13). Only one nucleolus is present, which is darkly stained, and relatively large. The majority of the nuclei exhibit what appears to be a fold. The limits of the cytoplasm surrounding the nuclei cannot be accurately ascertained. No large chromatin masses can be seen in the nuclei.

In the penultimate stage the appearance of the tubules is in part similar to that just described, differing from it, however, chiefly in the circumstance that the tubule is largely occupied by necrotic material and fatty masses, some of which are of considerable size (Fig. 31). The

same shreddy lightly staining material which has just been described as present in the ultimate stage is also seen in smaller amount in this stage. The lumen of the tubule is completely occupied. Nuclei are present in somewhat greater numbers than in the ultimate stage.

Under a higher magnification the shreddy material seen in the penultimate stage is observed to be denser and slightly more granular than in the succeeding stage. Numerous very small fatty granules appear to be embedded in its substance. The large fatty masses are mostly round in shape and exhibit various degrees of blackness when stained with osmic acid; they lie in the interspaces of the shreddy material. The nuclei of the cells of SERTOLI do not differ from those seen in the ultimate stage. The outline of the cytoplasm surrounding these nuclei is indistinct. The basement membrane, it may be observed, presents no alteration from the normal in either the ultimate or penultimate stage.

Normal changes taking place in the seminiferous tubules of the rat; formation of spermatozoa by the cells of the seminiferous tubules; degeneration of seminal cells.

In the previous section the ultimate changes resulting from the action of X rays have been set forth. Before proceeding to describe the mechanism of production of these changes it will be of assistance to the reader to trace as succinctly as possible the course of events, normally occurring in the seminiferous tubules, whose ultimate result is the production of spermatozoa. It is not proposed here to do more than give a very brief outline of these changes.

Formation of spermatozoa in the seminiferous tubules. Spermatogenesis in the rat and many other mammals has been described with more or less completeness in numerous monographs, and the reader should consult these for details which the space at our disposal does not permit us to give. Special attention should be directed to the articles on this subject by VON EBNER[1]), HERMANN[2]), LENHOSSÉK[3]), MÉVES[4]),

[1]) v. EBNER, V. Zur Spermatogenese bei den Säugetieren. Arch. f. mikr. Anat. 1888. Bd. XXXI. Nachtrag zur Spermatogenese bei den Säugetieren. Ibid. 1888. Bd. XXXI. Über die Teilung der Spermatocyten bei den Säugetieren. Sitz. Ber. d. Akad. d. Wiss. Wien. Math. nat. wiss. Klasse. Abt. 3. 1899. Bd. CVIII.

[2]) HERMANN, F. Beiträge zur Histologie des Hodens. Arch. f. Anat. 1889. Bd. XXXIV.

[3]) v. LENHOSSÉK, M. Untersuchungen über Spermatogenese. Arch. f. mikr. Anat. 1898. Bd. LI. S. 215.

[4]) MEVES, Fr. Über Struktur und Histogenese der Samenfäden des Meerschweinchens. Arch. f. mikr. Anat. 1899. Bd. LIV. S. 329.

Schönfeld[1]), Moore and Walker[2]), and Duesberg[3]). In writing this account we have followed the last writer to whose Figures the reader is referred, only such illustrations of the normal changes, resulting in the formation of spermatozoa, being introduced in this paper as are necessary to a clear understanding of the degenerative processes induced by X rays.

When a seminiferous tubule is viewed in section it is seen to be bounded externally by a basement membrane (Fig. 32). The cells lying immediately in contact with the basement membrane are of three kinds; foot cells or cells of Sertoli; spermatogonia; and spermatocytes of the first order. Next appear still more spermatocytes of the first order, and forming the innermost layer of the tubule are smaller cells consisting of spermatocytes of the second order, spermatids, and spermatozoa. These various types of cells are not, however, confined to any particular layer, but are more or less intermingled.

The course of development of the sexual cells in the seminiferous tubules is as follows. The germinal cells lying in contact with the basement membrane, the spermatogonia, give rise by division to further spermatogonial cells and to spermatocytes of the first order. The latter undergo a reduction division, the daughter cells being termed spermatocytes of the second order. These again divide in their turn producing daughter cells known as spermatids, which pass through a series of changes, becoming thereby converted into spermatozoa. The characters of these various types of cells and the changes which they undergo will now be further outlined.

The spermatogonia are small cells, which generally, in virtue of their position on the basement membrane, present the flattened appearance shown in Fig. 2. Relatively to the nucleus their cytoplasm is not abundant. The nucleus usually contains three or four dark masses of chromatin connected by finer strands of linin, which are more distinct in some of the spermatogonia than in others. Division in the spermatogonia conforms to the somatic type, illustrated in Fig. 3, and the ultimate products of the division are two cells whose appearance is at first precisely similar to the spermatogonium from which they are derived. One of the latter

---

[1]) Schönfeld, H. La spermatogénèse chez le taureau: travail complet. Arch. de Biologie. 1901. T. XVIII.

[2]) Moore, J. E. S. and Walker, C. E. The meiotic Process in Mammalia. Liverpool University Reports. 1906.

[3]) Duesberg, J. 1. Les divisions des spermatocytes chez le rat. Archiv f. Zellforschung. 1908. Bd. I. S. 399. 2. La spermiogénèse chez le rat. Ibid. 1909. Bd. II. S. 137.

cells remains a spermatogonium, while the other becomes a spermatocyte of the first order.

The spermatocytes of the first order undergo a series of changes which terminate in what is known as the first maturation division (heterotype or first meiotic division). These changes are briefly as follows. The masses of chromatin seen in the young cell become distributed along linin threads which make their appearance in the nucleus (Fig. 4). These threads become more and more numerous until eventually the nuclear chromatin is arranged in a fine network[1]). This network now becomes gradually coarser, and ultimately forms a spireme, this condition being brought about by the disappearance of the finer connecting strands of the network (Figs. 5 and 6). The spireme threads shorten and form the heterotype chromosomes or gemini. These are of various shapes; loops, rings and rods[2]). In the meantime, the two centrosomes originally present in the archoplasm leave the latter and migrate to opposite sides of the nucleus, a spindle being formed between them. The nuclear membrane now breaks down and the chromosomes become attached to the spindle fibres (Fig. 7). The chromosomes next move apart to the respective poles, and the formation of the daughter cells, which are termed spermatocytes of the second order is soon completed. An archoplasm (Figs. 5 and 6) appears quite early in the young spermatocyte, and continues visible until division occurs, after which it becomes lost in the cytoplasm and can no longer be distinguished. The nucleolus makes its appearance in the spermatocyte of the first order at an early stage, when the chromatin is still in the condition of a fine network[3]). There is also present in the nucleus at this stage the intranuclear body or plasmosome. Both the latter structures remain visible until the nuclear membrane disappears.

The spermatocytes of the second order present a nucleus with a sparse network of chromatin and a well marked nuclear membrane (Fig. 8). In the cytoplasm is seen the archoplasm and a structure called the chromatoid body, representing the remains of the nucleolus of the spermatocyte of the first order. The chromatoid body is again met with in the spermatid shortly to be described; its presence in the cytoplasm of these two classes of cells is of aid in distinguishing them from spermatocytes of the first order. A definite spireme such as is seen in spermatocytes of the first order is not formed, but the chromatin network breaks up into a number of short rods, which, becoming smaller and more compact, form the

[1]) Cp. Duesberg (1), Figs. 6—9.
[2]) Cp. Duesberg (1), Fig. 17.
[3]) Cp. Duesberg (1), Fig. 7.

chromosomes of the second maturation division (homotype division, second meiotic division). These chromosomes are smaller than the chromosomes of the heterotype division and are made up of rounded masses of equal size. The second maturation division results in the formation of two spermatids (Fig. 10).

The conversion of the spermatid into the spermatozoon next takes place. The nucleus of the spermatid rapidly enlarges, the chromatin granules become increasingly finer, until finally it presents a more or less homogeneous aspect (Fig. 11). In the cytoplasm of the young spermatid an archoplasm forms, in which one or more small vesicles appear, which become closely applied to the nuclear membrane. These increase in size, and eventually fuse to form one large vesicle, in the centre of which appears a darkly stained mass, the intermediate substances of Moore and Walker[1]) (Fig. 10). The single vesicle thus formed becomes flattened and spreads over one half of the nucleus. At the same time the intermediate substance, which increases in size, also becomes closely attached to and flattened out upon the nuclear membrane. The remains of the archoplasm then become lost in the cytoplasm together with the intermediate substance, (acrosome of Lenhossék). It will thus be seen that the archoplasmic vesicle forms a cephalic cap embracing the nucleus[2]). At the side of the nucleus opposite the cephalic cap lie the two centrosomes, and in their neighbourhood the chromatoid body is seen (Fig. 10). When the cephalic cap has covered one half of the nucleus, a collar like structure (manchette), formed from the cytoplasm, appears at the opposite end of the nucleus (Fig. 11). It is conical in shape, its base being attached to the nuclear membrane, and is only a temporary structure, soon disappearing. It encloses the two centrosomes and the chromatoid body. One of the centrosomes now lies on the nuclear membrane and acquires a flattened disc like form (Fig. 12). From the other centrosome the axial filament of the tail of the spermatozoon is developed. While these changes have been taking place in the position and form of the centrosomes, the cytoplasm, which has shifted completely to that side of the nucleus which is opposite the acrosome, now lengthens out in the direction of the axial filament, and little globules of fat appear in it, which increase in size and number. The greater part of the cytoplasm, containing the remains of the archoplasm, the chromatoid body and the above mentioned globules of fat, is next cast off, an exceedingly small portion remaining round the

[1]) Loc. cit.

[2]) Cp. Duesberg (2), Figs. 5—9.

axial filament in its basal portion. In the cast-off cytoplasm the masses of fatty material already present increase still further, becoming very conspicuous objects (Fig. 32).

In the above account the formation of spermatozoa has been described in some detail owing to the important bearing it has upon some of the chief degenerative processes, which are set up by the application of X rays. We have, however, omitted reference to the formation of the mitochondrial sheath and to minor points concerning the acrosome and cephalic cap, for which the reader is referred to DUESBERG's writings[1]).

The foot cells or cells of SERTOLI now remain to be described (Fig. 1). These are large cells with a broad base applied to the basement membrane of the seminiferous tubule, the apical portion of the cell extending towards the lumen of the seminiferous tubule. The foot cells presents a large nucleus, the chromatin of which is distributed in the form of very fine granules of uniform size, no clear indication of linin strands being recognizable. In the course of their development the spermatids become attached to the foot cells by their cephalic extremities, their tails projecting freely into the lumen of the seminiferous tubule. Each foot cell ultimately supports a large number of spermatozoa, which are very closely applied to each other so as to constitute a sheath like collection. The foot cells can be distinguished from adjacent spermatogonia by their greater size, clear nucleus, large nucleolus, and finely granular chromatin; in the spermatogonia the chromatin is conspicuous by its aggregation into four or more masses connected by fine linin strands.

Degeneration of seminal cells. This occurs in some degree in healthy testes and assumes two forms: 1. necrosis; 2. formation of fatty globules.

1. Necrosis appears to affect only spermatocytes of the first order. In healthy testes some tubules are quite free from this condition, while others exhibit it in moderate amount. Only a very small fraction of the spermatocytes of the first order however exhibit this change unter normal conditions. Necrosis is most readily recognizable in stained sections when it is observed that the cytoplasm of the cell takes up basic dyes instead of acid dyes. It is not so well seen in tissues hardened in osmic acid but otherwise unstained; in such cases the cytoplasm assumes a cloudy character. The necrosis involves the nucleoplasm as well as the cytoplasm and affects cells which are in the mitotic condition as well as cells which are not dividing. In the latter case the nuclear mem-

[1]) Loc. cit.

brane is generally absent, and the nuclear chromatin usually condensed and irregular in outline. Some reduction in size appears to accompany necrosis. The degree to which the necrotic material stains varies from very light tinting to an exceedingly dark colouration. These changes are similar to, but less frequent, than those occurring in the X rayed tissues, about to be described.

2. Fatty globules are met with under two aspects: a) collections of small globules chiefly disposed near the lumen of the tubules and b) larger granules, some single, some forming small aggregations situated near the basement membrane.

a) These occur in the cytoplasm of spermatids, particularly in cast-off cytoplasm, first appearing when the head of the spermatozoon is formed (Fig. 32). The globules are all of about the same size, that is to say, about 3 μ in diameter. Their number is variable, a dozen or more being usually present. For the most part they stain unequally with osmic acid. These collections are mostly found near the lumen of the tubule, they are less frequent and fewer in number in the middle portion of the tubules and are scanty near the basement membrane. The individual globules lie very close together.

b) Fatty globules of the second class are sparse in number and usually occur only in a minority of the tubules. They vary in size from 2 μ to 12 μ, the larger size generally predominating (Fig. 32). Some of these globules are spherical, others present an uneven but still rounded outline, the latter being evidently formed by the coalescence of smaller masses. The appearance of small vacuoles near the edge, as if a portion of the fatty globule had been scooped out, is not uncommon. These fatty globules appear to arise within the cytoplasm of young spermatids, which are placed nearer the basement membrane than usual, and exhibit fatty change in an exaggerated degree.

The above degenerative changes are most easily observed during the noncopulatory periods when the testes diminish in size and are withdrawn into the abdominal cavity. When the testes become enlarged and descend into the scrotum, the germinal cells multiplying rapidly and abundant production of spermatozoa taking place, such degenerative changes become reduced to a minimum. These changes do not appear to have been described by those observers who have investigated the normal course of development of seminal cells.

In addition some of the further changes met with after exposure to X rays, described in the next section, are occasionally observed in normal testes. Thus multinucleate cells occur, though rarely. Enlarge-

ment of archoplasmic vesicles, inconsiderable in size, is equally rare. On the other hand we have not observed enlargement of intranuclear body vacuoles, nor have we encountered multipolar or irregular mitoses or multivacuolated cell masses.

Changes produced in the testis by the action of X rays.

The ultimate and penultimate changes in the testis resulting from the action of X rays have already been described on pages 9 and 10. If the testis is examined immediately after a single exposure to X rays, of duration and intensity sufficient to cause within a fortnight considerable destruction of seminal epithelium (e. g. seven SABORAUD units) no changes are observed. After the lapse of 24 hours however marked changes become observable with the higher powers of the microscope, though with the lower powers no striking alteration in the aspect of the seminiferous tubules may be noticeable. Subsequently, changes in part resembling, but slighter in degree than those described above as constituting the penultimate stage, are met with. Some difficulty is experienced in defining the time relations of the changes about to be described, since the same amount of exposure to X rays does not always produce an equal degree of injury of the seminal cells. In the absence of more precise determination of the average periods of time required for the production of the degenerative changes observed, the actual time elapsing in individual experiments between exposure to X rays (in a few cases four hours, usually sixty to ninety minutes; cp. p. 249) and examination of the condition of the seminal tubules is given[1]) in the following description, which will be taken in the following order: in the first place a brief reference will be made to the condition of the connective tissue of the testis, next the changes occurring, at different periods after exposure, in the individual cells of the seminiferous tubules (cells of SERTOLI, spermatocytes of the first order, spermatocytes of the second order, spermatids, spermatozoa) will be detailed; then, in the next section, these changes will be recapitulated in respect of individual cell structures and cell products; and finally, in the last section, the characters of the changes produced by X rays will be considered from the standpoint of their physiological aspect.

The circumstance that slight degenerative changes are encountered in testes which have not been exposed to X rays, renders it necessary,

[1]) These periods of time refer therefore exclusively to actual experimental results and have not necessarily any general application.

in studying the less marked changes following X radiation of moderate intensity, to remove one testis for microscopical examination shortly before applying the rays to the other. In this way the risk of confusing preexisting changes with the effect of X radiation is avoided.

Changes in the interstitial tissue. The chief change observable in the testis at the end of a week after prolonged exposure to X rays (when the gland has already become shrunken) is marked oedema, clear fluid exuding freely from a cut surface. Slight congestion is also observable.

On microscopic examination at this period or at the end of a fortnight after the application of X rays no structural change can be recognized in the intertubular stroma beyond some distension of the connective tissue spaces. The nuclei of the interstitial tissue are not increased in number or otherwise altered. No cell infiltration has occurred and the bloodvessels are unchanged.

Changes in the cells of the seminiferous tubules. Cells of Sertoli. The most marked changes are observed about fourteen days after prolonged exposure to X rays, when the seminal cells have been destroyed and the cells of Sertoli are greatly increased in number, the tubule being in the condition shown in Fig. 30. At this period the cytoplasm surrounding the nucleus is diminished in amount, presenting a ragged appearance with ill defined margins, exhibiting a very coarsely reticular, occasionally vacuolated, character and staining lightly (Fig. 13; compare this Figure with Fig. 1, in which a healthy cell of Sertoli is shown). The size of the nucleus is not much altered; its margin is rounded and presents one or more longitudinal clefts, in particular one large cleft extending completely across the nucleus being common. It contains coarse chromatin granules, some distributed on a faint linin network. The nucleolus is unaltered in aspect. The shreddy material seen in Figs. 30 and 31, which is usually regarded as consisting of the cytoplasm of Sertoli, is exceedingly abundant. This material cannot be recognized with certainty in healthy seminiferous tubules.

At an early period the above changes are less marked. At the end of four days after exposure to X rays increase of the amount of shreddy material and of the number of the cells of Sertoli is recognizable with more or less difficulty, the seminal cells being at this period still present in large numbers.

Spermatogonia. After moderately prolonged exposure to X radiation spermatogonia are usually recognizable for about three days. After the fourth day they cease to be recognizable. During this period we have not been able to observe necrotic or other change, the mode of dis-

appearance of these cells not being apparent. During the period in which spermatogonia are recognizable we have not, however, after careful search encountered any division figures, from which it follows that mitosis ceases early after X ray injury. In this way the rapid diminution of the number of spermatocytes of the first order about to be described, observable after X radiation of moderate intensity, is in part explained.

Observations of changes occurring in spermatogonia after exposure of the testis to X rays is attended with some difficulty, owing to the circumstance that on the one hand these cells (and in somewhat lesser degree spermatocytes of the second order) are, in comparison with spermatocytes of the first order and spermatids, relatively few, a somewhat extended examination of a large number of sections being therefore necessitated and, on the other hand the size of the spermatogonia is small and their characters are not very pronounced (cp. Fig. 2), so that their identification, when somewhat altered, would not be readily effected.

Spermatocytes of the first order. During the first few days following exposure to X rays marked changes develop in the spermatocytes of the first order and as these cells are numerous and prominent the resulting alteration in the aspect of the tubule soon becomes obtrusive.

The alterations observable in spermatocytes of the first order fall into two classes: that in which necrosis, revealed by changes presumably autolytic in character, takes place; and that in which non-necrotic changes occur. The second class is frequently met with alone, but may also occur in association with necrotic change. When studying the slighter degrees of change it is necessary to remove one testis shortly before the application of X rays in order to obtain a criterion of the condition of the other testis.

Necrosis of non-dividing spermatocytes of the first order is usually recognizable in slight degree in the seminiferous tubules after the third or fourth day following exposure to X rays. During the first three days the amount and degree of necrosis sometimes did not exceed to any considerable extent that observable in the control testis removed before exposure. Between the third and ninth days large necrotic masses were generally abundant. These in turn disappear after the ninth day; presumably fluid is discharged into the lumen of the tubule by which the necrotic masses are carried away mechanically. The character of the necrotic change is better understood by a glance at Figs. 15 and 17 than by a verbal description. When this change is not too advanced the identity of the affected cell can frequently be determined by reference to the remains of the spireme. In the unstained condition necrosis is

revealed by a diffuse cloudiness of both cytoplasm and nucleoplasm; it is however more readily observed in stained specimens, basic dyes being taken up readily, while acid dyes are without effect. In spermatocytes of the first order in which necrosis is not so marked as to prevent identification additional changes may be recognizable. One of the more common of such changes is contraction of the nucleus, sometimes marked, accompanying contraction of the cytoplasm (Figs. 15 and 17). Disappearance of the nuclear membrane is frequent (Fig. 15) and the spireme, which stains feebly (Fig. 17) may become irregularly contracted into one or more portions.

Necrotic change may also affect spermatocytes of the first order which are undergoing mitosis (Fig. 16). In such cases the necrotic cytoplasm contains darkly staining granules and masses, some of which can be recognized to be more or less altered chromosomes. A certain amount of shrinkage of the cell is not uncommon.

Non-necrotic changes after the application of X rays are frequently met with in spermatocytes of the first order which are not dividing. The following are most common: enlargement of the clear space surrounding the intranuclear body (Fig. 14); appearance of intranuclear vacuoles not containing an intranuclear body. These changes have been frequently observed between the third and seventh days after exposure to X rays. The former change results in the formation of a vacuole which may occupy more than half the volume of the nucleus. In both forms of vacuole the nucleus becomes considerably compressed and thinned, staining darkly. The characters of these vacuoles are further considered in the next section.

Another change observed with some frequency is thinning of the spireme. It is not unfrequently attended with other changes, in particular, necrosis (cp. Fig. 17).

Non-necrotic changes also affect dividing spermatocytes of the first order, assuming the form of multipolar mitoses and abnormal bipolar mitoses.

Multipolar mitoses (Fig. 19) are seen only at the end of twenty four hours. The number of poles generally varies between three and four. The number of spindles, which are frequently of unequal size, varies from two to four. In some cases common poles are seen, the number of such ranging from one to three. It will thus be readily understood that some of the figures produced are difficult to analyse. The spindles, which present a disordered arrangement, are often well defined, the spindle fibres being in many cases exceedingly distinct. Well defined centrosomes may be met with at the poles of the spindles. The chromosomes,

when situated on the spindles, are distributed to them in unequal numbers and are irregularly arranged, sometimes the majority of the chromosomes lying on one side of the spindle. Not unfrequently some of the chromosomes are imperfectly attached to the spindle fibres, and others, individually or in groups, appear to be altogether outside the spindle fibres. The chromosomes, as a rule, do not present the usual aspect of heterotypical chromosomes, but are of irregular form, some being ovoid. They are generally of small size and appear to be merely fragments of fully formed chromosomes. The number of chromosomes on each spindle is greater than that observed on the normal heterotypical bipolar spindle. No archoplasmic masses can be seen.

Abnormal bipolar mitoses are also seen at the end of twenty four hours; the chromosomes, which are more numerous and smaller than normal, being apparently fragmented, are very often collected to one side of the spindle and one or more of the chromosomes may lie free in the cell, not attached to any spindle fibres (cp. Fig. 16).

Spermatocytes of the second order. Owing to the relative fewness of these in relation to the other cells of the seminiferous tubules and partly perhaps owing to their less striking aspect investigation of the effect of X rays upon spermatocytes of the second order is not readily carried out. These cells disappear within about five days after exposure to X rays but the mode of their disappearance is uncertain. We have not observed necrosis affecting these cells either in the non-dividing state or during homotype mitosis. The sole change the occurrence of which we have been so far able to recognize is amitosis, illustrated by Fig. 21, in which the nucleus is seen to be incompletely divided by one large and two small clefts. The identification of this cell, it may be observed, is made chiefly by reference to the presence of the archoplasm and chromatoid body in the cytoplasm and the arrangement of chromatin in the nucleus. Amitosis was observed twenty four hours after the application of X rays.

Before proceeding to describe the effect of X radiation upon spermatids it will be convenient at this stage to describe the cell masses which are met with in seminiferous tubules after exposure to X rays, but cannot strictly be referred to any of the normal cell constituents of the seminiferous tubule. These assume two forms: multinucleate and multivacuolate cell masses.

Multinucleate cells (Fig. 20). These were first seen on the third day, subsequently rapidly disappearing; they are on the whole rarely met with. Two modes of origin of multinucleate cells may be suggested:

irregular mitosis (Fig. 19); and amitosis (Fig. 21). The size of the multinucleate cells may exceed that of fully formed spermatocytes of the first order or may be much less. In the latter case the cytoplasm in which the nuclei are embedded usually stains more deeply than in the former. The cytoplasm is arranged in an imperfect somewhat coarse network and sometimes, but not always, contains one or more chromatoid bodies. No archoplasm appears to be present in the cytoplasm. The nuclei are one to four or more in number. In size they exhibit great diversity, varying between 4 μ and 16 μ in diameter. They have a well defined nuclear membrane; their chromatin consists of granules of very varying size distributed on strands of linin. It is doubtful if nucleoli or intranuclear bodies are present in the nuclei. Some of the larger nuclei are observed to present a certain resemblance to nuclei of spermatocytes of the second order; others, smaller in size, to nuclei of spermatids.

Multivacuolate cell masses are more common than multinucleate cells and are met with between the 4th and 7th days after the application of X rays (Figs. 24 and 25). The vacuoles vary in number from two to twelve or even more; in size they range from 4 μ to 12 μ or more in diameter. The size of the whole cell mass may exceed that of a fully formed spermatocyte of the first order. The larger vacuoles are completely or partially surrounded, as the Figures indicate, by darkly staining material, in this respect resembling respectively the intranuclear vacuoles described above (p. 260) and the archoplasmic vacuoles about to be described (p. 266). Further consideration of the mode of origin of these cells will however be more conveniently taken in the next section. The smaller vacuoles sometimes appear to be completely covered by more or less condensed nuclear material, sometimes it is doubtful if a complete covering is present. The cytoplasm in which the vacuoles are embedded usually stains somewhat darkly; it exhibits a variable number of dark granules and may be free from archoplasm.

Spermatids. Young spermatids, before the head is formed, for example in a stage not far removed from that represented in Fig. 10, may undergo necrosis. Necrosis may also occur when the head of the spermatozoon is partly formed, that is to say in the stage shown in Fig. 11 (Fig. 29). The first appearance of necrosis was observed on the 4th day after the application of X rays, and it was considerably marked by the 9th day. It is characterized by general darkening, the aspect of the cytoplasm being more or less homogeneous, no definite reticulum being apparent; its appearance is therefore not markedly different from that of necrotic spermatocytes of the first order already described. The

nucleus is however also affected, though to a less extent, by necrosis. We have not observed necrosis in the cast-off cytoplasm of the spermatids.

Fatty change which is observed normally in the cytoplasm of the young spermatid, consisting in the appearance of numerous fatty globules usually 3 μ to 4 μ in diameter, was observed to be very considerably increased between the 4th and 9th days after the application of X rays.

Enlargement of the archoplasmic vesicle is common (Fig. 28). It commences in the very young spermatid; it is not observed when the nucleus is being converted into the head of the spermatozoon. This enlargement was first seen on the 3rd day. The distinctive feature of the enlargement of the archoplasmic vesicle is that it does not tend to envelop the nucleus but simply presses upon it and ultimately converts it into a cup-like structure. The wall of the vesicle is sharply outlined, is very thin, apparently homogeneous, and stains lightly. The intermediate body is at first recognizable, but rapidly disappears as the nucleus of the spermatid becomes compressed by the enlarging vesicle, its chromatin network being thus rendered denser but not otherwise altered.

Spermatozoa. The only change which can be recognized to occur in spermatozoa after the application of X rays is softening, which is revealed by the separation of the filaments. We have not been able to trace out in detail the steps of this process.

Changes, produced by the action of X rays on the seminiferous tubules, considered in respect of individual cell structures or cell products.

In this section the alterations already described are for convenience of reference briefly recapitulated under different headings.

Cytoplasm. In the cytoplasm the following changes are observed: 1. necrosis; 2. appearance of fat granules and globules; 3. vacuolation.

1. The first of these changes, which when advanced affects the whole of the cell including the nucleus, is revealed by a variable degree of cloudiness and altered staining reaction. When slight in extent the type of cell affected can be recognized, when marked it is impossible to identify the type of cell involved. We have not observed this form of degeneration in spermatogonia, in spermatocytes of the second order, in the cast-off cytoplasm of spermatids or in cells of SERTOLI, but it is common in spermatocytes of the first order, in spermatids and also in the cell masses referred to on p. 261. It has been observed after the 3rd day[1]).

[1]) Cp. note p. 257.

2. Granules and globules of fat are not seen in spermatogonia, in spermatocytes or in cells of SERTOLI, but they are always seen in young spermatids, and are abundant in the cytoplasm of spermatids in which the spermatozoal head has made its appearance, and also in the cast-off cytoplasm of spermatids. Their appearance in moderate degree is normal; after the application of X rays their numbers undergo considerable increase. The size of the fat globules varies from 2 μ or less to 4 μ or more. This form of degeneration was usually met with between the 4th and 9th days. The large fatty globules, presumably representing degenerated spermatids, normally found near the basement membrane, already referred to on p. 256, are also markedly increased in number after the application of X rays, the increase appearing after the 3rd day. Fatty globules of small size are also met with in small numbers in multivacuolate cells.

3. Vacuolation of the cytoplasm, which is rarely met with, occurs in the cells of SERTOLI. It has been observed on the 3rd to the 7th day and is characterized by the appearance of well defined, more or less globular, apparently fluid collections 3 μ to 5 μ in diameter.

Nucleus. The non-dividing nucleus: 1. may become multiple; 2. may be the seat of, or become involved in, vacuole formation resulting in compression of the nucleoplasm; 3. may undergo necrosis at the same time as the cytoplasm.

1. Multiplication of the nuclei is the result of irregular mitotic division of spermatocytes of the first order and of amitosis of spermatocytes of the second order. Its makes its appearance after the 3rd day and disappears after the 7th day. The nuclei are irregular in size, but remain more or less globular in aspect. In number they range from two to four, occasionally five to eight (p. 261).

2. The formation of vacuoles in connection with the nucleus is referred to on p. 266. Compression of the nucleus, which occurs as the result of vacuole formation, is generally eccentric in character. Beyond this and darker staining, due to the approximation of the chromatin masses, no further change occurs. Compression of nuclei is seen in spermatocytes of the first order and spermatids; in the former on the 3rd day to the 9th day, in the latter between the 4th and 9th days. Alteration in the chromatin of the nucleus occur in connection with the change next to be described. The nuclear membrane disappears or becomes indistinct; the chromatin network is not well defined.

3. Necrosis, characterized by diffuse cloudiness of the nucleus, the hyaloplasm of which stains by basic instead of acid dyes, has been ob-

served by us only in spermatocytes of the first order in association with a similar change in the cytoplasm. It occurs after the 3rd day.

In relation to division the following changes occur in the nucleus: 1. multiple and irregular mitoses; 2. amitotic division.

1. The former occur only in spermatocytes of the first order and are met with at the end of 24 hours after the application of X rays. The chromosomes are not usually distinctively somatic or heterotypical in character; occasionally they resemble, though not very closely, homotype chromosomes. The distribution of the chromosomes on the spindle is unequal, some appear to be imperfectly attached to spindle fibres, and some are not connected with any of the spindles, but lie free in the cytoplasm.

2. Amitotic division is marked in the cells of SERTOLI; it is seen after the 7th day, and is usually indicated by the appearance of one or more deep clefts in the nucleus. Occasionally amitotic division is seen in spermatocytes of the second order; it has been observed at the end of twenty four hours.

Nucleolus. No definite changes in the nucleolus, which is normally recognizable in cells of SERTOLI and in spermatocytes of the first order, but not in spermatocytes of the second order or in spermatids, have been observed by us after the application of X rays.

Intranuclear body. This is frequently affected by the action of X rays upon the spermatocytes of the first order, becoming enlarged, elongated and surrounded by a larger clear space than normal, the latter often becoming converted into a vacuole of considerable size. This change was observed between the 4th and 7th days after exposure to X rays.

Chromatoid body. This cell constituent is an obtrusive feature of young spermatids, especially of those containing vacuoles, in which instead of a single lobulated mass there is sometimes a group of two or four, or sometimes more, smaller masses which otherwise do not present any marked difference in aspect from the normal. It is not clear that the chromatoid masses undergo any real increase in number or other change as the result of X rays. No chromatoid bodies are recognizable in the spermatocytes of the first order; but in multivacuolated or multinucleated cells such bodies may be found in various situations in the cell masses.

Archoplasmic vesicle. Enlargement of the archoplasmic vesicle of the young spermatid follows the application of X rays, first making its appearance after the third day. The enlargement causes indentation of the nucleus, which, as the vesicle continues to increase in size becomes

considerably compressed and assumes a bell shape. Shortly afterwards the vacuolated spermatid disappears, but the manner of its disappearance has not been fully traced. Although this enlargement is recognizable only in the spermatid it is possible that some of the vacuoles formed in connection with spermatocytes of the first order, are, in reality, archoplasmic in origin.

Archoplasm. The archoplasm met with in spermatocytes of the first and second orders, and in spermatids, is not markedly altered in appearance after the application of X rays. Several masses of archoplasm, it may be observed, can sometimes be seen in the multinucleated and multivacuolated masses.

Centrosomes. These are normally readily recognizable in spermatids, but are less easily observed at the spindle poles of dividing spermatocytes. No structural change was observed, after the application of X rays (cp. p. 271).

Vacuoles. These may be arranged in six groups, the first five being nuclear and the last cytoplasmic.

1. Vacuoles arising in connection with intranuclear bodies (Fig. 14). These occur singly in the nuclei of spermatocytes of the first order; they are also seen in multivacuolated cell masses. They contain a large elongated intranuclear body and do not present a definite external membrane. In diameter they vary from about a quarter to more than half the normal diameter of the cell. They are completely embedded in the nucleus, which is more or less compressed. They have been observed after the 3rd day.

2. Empty vacuoles, not containing an intranuclear body, situated wholly in the nucleus, which they compress (Figs. 22, 25 and 26). These usually have the same size as the preceding, sometimes, however, they are only about 3 μ in diameter. They have no cyst wall. They occur in spermatocytes of the first and second orders, and may also be recognized in some of the multivacuolated cell masses. They have been seen only after the 3rd day.

3. Distended archoplasmic vesicles, provided with a cyst wall (Figs. 23, 24, 27 and 28). These appear, after the 3rd day, in spermatids and in spermatocytes of the second order. They are also recognizable in some multivacuolate cell masses. A definite intermediate body cannot be recognized. In size they are generally equal to that of a spermatid nucleus, but they may be larger. They compress the nucleus, by which they are almost completely surrounded.

4. Vacuoles possessing a cyst wall, embedded in the nucleus, but smaller than the preceding which they otherwise resemble. These do not occur singly, but are found in multivacuolate cells and cell masses and are associated with larger vacuoles, some of which can be recognized to be of type 3. They appear after the 3rd day.

5. Vacuoles, which possess no clearly defined cyst wall, and cannot be recognized to be obviously surrounded, at any rate, throughout the whole of their extent by the nucleus (cp. smaller vacuoles in Fig. 25). They are arranged in groups, embedded in the same mass of cytoplasm, and vary from 3 μ to 6 μ in diameter. They occur in altered spermatocytes of the first order and in spermatids, but are most abundant in multivacuolated cell masses. They have been observed chiefly on the 4th to the 7th days. It is not certain that the smallest of these are surrounded by nuclear remains, but it is probable that they arise in connection with the miniature nuclei met with in some of the multinucleate cells.

6. Vacuoles in the cytoplasm, not provided with a well defined cyst wall. They appear to be fluid collections and have been met with in the cells of SERTOLI on the 3rd to the 7th days.

Multivacuolate cell masses may be arranged in three groups, according as: 1. the vacuoles are completely surrounded by the nucleus or nuclear remains; 2. are incompletely surrounded by nuclear material; or 3. the relationship of the vacuole to nuclear material is uncertain. Multivacuolate cell masses of the first class appear to be derived from spermatocytes of the first order as the result of irregular mitosis. The vacuoles do not possess a definite membranous cyst wall; sometimes they contain an intranuclear body, in other cases they are empty. Multivacuolated cell masses of the second class are made up of numerous vacuolated spermatids which have presumably either become fused together or never had a separate existence, owing to the cytoplasm failing to divide when the daughter nuclei (of the spermatocytes of the second order[1]) have been formed. The vacuoles appear before the head of the spermatozoon is formed; they possess a cyst wall and are of approximately the same size

[1]) When four of these vacuoles are present the parent nuclei (derived from spermatocytes of the first order) must also be assumed not to have formed separate cells, but to have remained embedded in a common cytoplasm. If eight nuclei are present the daughter nuclei of the spermatogonia must be assumed not to have formed separate cells. Another possible explanation of the origin of these cell masses is that they occur in connection with irregular mitoses in spermatocytes of the first order or amitoses in spermatocytes of the second order.

as the spermatid nucleus. Multivacuolate cell masses of the third class present vacuoles of the same size as the preceding or considerably smaller. They frequently occur in association with other vacuoles which can be recognized to be of the preceding types. The difficulty in identifying these vacuoles arises from the impossibility of deciding: 1. whether they are surrounded completely or only in part by nuclear material; and also 2. whether they possess a definite cyst wall. When of very small size it is difficult to ascertain if they are surrounded by nuclear material. In general aspect these cell masses resemble those of types 1 and 2.

Fat globules have been already referred to on p. 264.

Débris. We now consider the significance of the shreddy material containing Sertolian nuclei, which ultimately forms the sole constituent of the tubules about thirteen days after the application of X rays of the intensity above indicated. This material, which is finely granular and stains with acid dyes, is for the most part arranged in the form of thin expansions, irregularly arranged to form a coarse meshwork extending between the basement membrane and the centre of the tubule.

As regards the origin of this material two views are possible; 1. that of Bergonié and Tribondeau, that it represents a pathological increase of what they regard as the normal syncytium, in which the cells of Sertoli are conceived to be connected by more or less flat expansions of their cytoplasm; 2. that the shreddy material is derived from the breaking up of some or all of the varieties of seminal cells, in particular from the remains of cytoplasm and of tails of spermatozoa. The appearance of sections from the 4th day onwards appeared to indicate that spermatozoal tails take part in the formation of this shreddy material.

Changes in the cells of the testis, resulting from the action of X rays, considered from the physiological standpoint.

Up to the present attention has been directed solely to the structural changes occurring in cells of the testis following upon exposure to X rays. This article would however be incomplete without some reference to the significance of these changes in respect of disturbance of cell function.

At the outset we are met with the limitation that the study of functional disturbance is possible only in regard to such functions as are already known and that in the case of the testis the data available concerning the life history of individual cell types is scanty, being based almost exclusively upon morphological studies. Although therefore the investigation, in seminal cells, of functional disturbances following upon

X ray injuries is at present necessarily limited and imperfect, nevertheless owing to the important bearing which such investigation appears likely to have upon the numerous cytological observations which have of recent years been made in connection with various pathological conditions, natural or induced, in particular in relation to malignant growth, it appears desirable to refer here, so far as this is possible, to the functional aspect of the structural changes observable after exposure to X rays. deferring for future consideration the interpretation of several problems in respect of which our observations are still in progress but are in too incomplete a condition to render discussion at this stage profitable.

The seminal cells appear to be directly affected by X rays[1]). The action of these rays if sufficiently intense and prolonged is to cause cell death, which is not, however, indicated by any immediate change (in the case of spermatocytes of the first order and spermatids)[2]) but is revealed at the end of twenty four hours or more, when changes due presumably to ferment action have taken place, by general cloudiness and altered staining reaction, to which condition the term necrosis is applied. That in such cases complete arrest of function has from the first occurred is highly probable, since the cell elements do not exhibit any of the structural changes which attend the slighter degrees of application of X rays.

Interest is centred however not in the action of X rays in amount sufficient to cause complete arrest of cell functions, but in that sufficient to cause only partial disturbance of cell function revealed later by structural changes in the cell, for it is only in the latter case that individual cell elements are likely to be more or less exclusively affected, in which case important light may be expected to be thrown upon cell changes which are at present obscure. This, it may be observed, has been the object and has formed the starting point of the present investigation.

The functional disturbances revealed by the structural changes

---

[1]) Secretory and nutritive functions have been attributed, as already mentioned, to the cells of SERTOLI. If this is so it is conceivable that such functions might be inhibited by the action of X rays, and that some of the changes exhibited in the seminal cells might be the result of such inhibition. The extent to which such action may occur does not appear to be capable of estimation. On the other hand the rapidity with which cell destruction follows the application of X rays of sufficient intensity and duration appears to afford conclusive evidence of the direct action of the rays upon seminal cells.

[2]) We have not been able to observe this change in spermatogonia, spermatocytes of the second order or spermatozoa. Cells of SERTOLI are remarkably resistant to the action of X rays, being in this respect comparable to surface epithelial cells.

described in the preceding sections affect cell division, cell development, and cell nutrition, no purely functional affection of any seminal cells, not indicated by structural changes, being as yet known[1]). Disturbance of cell division is exhibited by irregular mitoses and by amitoses, disturbance of cell development is exemplified by archoplasmic vacuole formation, and disturbance of cell nutrition is seen in intranuclear vacuole formation. Attention will here be confined to these three types of functional disturbance which involve the more striking structural changes already described.

Irregular mitoses (Fig. 19) are very instructive, since they afford an illustration of the effect of disturbance of a single cell structure, for in such cases the cause of the altered appearance of the cell appears to lie primarily in a disordered condition of the centrosomes, some of which divide while others remain undivided. The result is that some of the spindles have a common pole. The spindles themselves do not appear to be otherwise affected, the spindle fibres being well formed. On the other hand, the centrosomes do not appear to be the only structure acted upon by X rays in such cases, for the chromosomes are generally not properly formed, and not unfrequently individual chromosomes or small groups of chromosomes, are found not to be attached to spindle fibres, but at some distance from the spindle. Cells exhibiting multipolar mitoses seem to undergo necrosis readily. Whether any further development is possible before this occurs is uncertain; we have not been able to trace the passage of cells exhibiting multipolar mitoses into multinuclear cells, though this is not improbable.

Amitosis becomes marked in cells of Sertoli after the application of X rays, and is occasionally seen in spermatocytes of the second order. In the former case (Fig. 12) it is uncertain whether this is to be regarded as merely an exaggeration of a normal function or whether the type of cell division has been changed, for in normal testes it does not seem possible to observe division in cells of Sertoli, apparently partly in consequence of the relative rarity with which this process occurs in such cells. In spermatocytes of the second order, on the contrary, mitosis which is the ordinary mode of division is readily observed in healthy testes, but amitosis does not appear to occur. In this cell type, therefore, amitoses following on exposure to X rays must be regarded as an anomaly of cell

[1]) Sterility produced after exposure to X rays appears, according to the data at present available, to be due to azöospermia. A purely functional sterility caused by exposure to X rays, occurring when spermatozoa are still formed, does not appear to be met with.

division. The inquiry presents itself, is division by amitosis in spermatocytes of the second order, after the application of X rays, comparable in part to the process of mitosis. The points of resemblance between the two are; separation of the chromatin into two approximately equal portions (direct in amitosis, indirect in mitosis); division of the hyaloplasm of the nucleus; separation of cytoplasm. The points of difference lie in the omission of the following processes in amitosis: separation of the centrosomes; the formation of a spindle; differentiation of the nucleus into spireme and subsequently into chromosomes.

Turning now to disturbance of cell development, an excellent illustration is afforded by the marked enlargement of the archoplasmic vesicle leading to the formation of a large vacuole (Fig. 28), which occurs as an exaggeration of one of the many complicated and obscure processes by means of which the spermatid is transformed into a spermatozoon. In many cases this change appears to occur alone, the cell not presenting any other marked alteration except compression of the nuclear substance; in other cases, however, it becomes obvious that additional disturbances of function are in action, e. g. incomplete separation (or possibly fusion) of the individual spermatids, resulting in the formation of cell masses (Fig. 24), or the appearance of smaller vesicles (Fig. 28).

Finally as a type of disturbance of an apparently purely nutritive character following upon the application of X rays, may be taken the formation of large vacuoles round the intranuclear body (Fig. 14) and also of intranuclear vacuoles similar in appearance to these except that they do not contain any intranuclear body. It is possible that the latter vacuoles may be derived from the former by the disappearance of the intranuclear body. We have not however been able to trace any intermediate steps of such disturbances.

Description of the illustrations.

Plates XXIII—XXIV.

The Illustrations refer to the testis of the rat. Figs. 1 to 12 and 32 represent normal appearances; the remaining Figures are made from testes which had been exposed one to twelve days previously to the action of X rays.

As hardening fluid FLEMMING's solution (strong) was employed. For staining HEIDENHAIN's iron alum haematoxylin method was used with Orange G as a counterstain.

Figs. 1 to 29 are magnified 2,700 diameters, (comp. oc. 18; apo. obj. 2 mm) the scale being shown below Fig. 12; Figs. 30 to 32 are magnified 460 diameters (oc. 3; obj. 4 mm) the scale being given below Fig. 30. *chr.b* = chromatoid body; *a* = archoplasm; *i.s.* = intermediate substance; *i.b.* = intranuclear body; *m* = manchette.

Fig. 1. Normal cell of SERTOLI. The cell is in contact with the basement membrane of a seminiferous tubule. The nucleus is large, contains a well-defined nuclear membrane within which is a large nucleolus. The chromatin of the nucleus is distributed in fine granules, three of four larger masses being present in addition; the former are faintly stained, the latter stain deeply. The cytoplasm is moderately abundant; it is finely reticular in aspect, and its outlines are not clearly defined below.

Fig. 2. Normal spermatogonium in non-dividing stage, situated on the basement membrane of a seminiferous tubule. The nucleus presents a well-defined nuclear membrane, within which chromatin is arranged in the form of numerous irregular masses, some of which being out of focus are represented as shadows. A nucleolus is seen but no definite linin network. No intranuclear body is present. The cytoplasm of the cell is fairly abundant and finely reticular. No archoplasmic vesicle is seen.

Fig. 3. Normal dividing spermatogonium. The cell which lies on the basement membrane of a seminiferous tubule is of larger size than the preceding cell. The nuclear membrane has disappeared. The chromosomes which are very numerous (about thirty in number), and are arranged on the equatorial plane of a spindle have the shape of short thick v-shaped rods, some of which show signs of fission. Around the chromosomes is a clear area. The cytoplasm is finely reticular and its outlines are sharply defined.

Fig. 4. Normal young spermatocyte of the first order situated at a distance of 12 μ from the basement membrane of a seminiferous tubule. The nuclear membrane is indistinct. The nucleus contains a linin network upon the threads of which are arranged masses of chromatin of varying size, five of which are conspicuously larger than the rest. No intranuclear body or nucleolus can be recognized. The cytoplasm is abundant, and exhibits a fine reticulum, the meshes of which are somewhat coarse.

Fig. 5. Normal spermatocyte of the first order situated at a distance of about 12 μ from the basement membrane of a seminiferous tubule. The cell, which is larger than the preceding, is in the spireme stage. The nuclear membrane is somewhat indistinct. The nucleus contains a linin network around the threads of which are arranged masses of chromatin, which are larger and more numerous than in the preceding figure; an intranuclear body is also seen and a nucleolus. The cytoplasm is abundant, exhibits as before a fine reticulum, and contains an archoplasmic mass, staining with acid dyes, as well as two small darkly stained granules, the significance of which is uncertain.

Fig. 6. Normal dividing spermatocyte of the first order, in late spireme stage, situated about 30 μ from the basement membrane of a seminiferous tubule. The cell is still larger than that shown in the preceding Figure. The nucleus exhibits a nuclear membrane, within which chromatin is arranged upon looped linin threads; an intranuclear body and nucleolus are also seen. The cytoplasm, which is finely reticular, is clearer than in the preceding Figure and contains an archoplasm near which is a darkly stained granule.

Fig. 7. Normal spermatocyte of the first order, undergoing heterotypical mitosis, situated towards the basement membrane, about three-fifths of the distance from this to the lumen of a seminiferous tubule. The nuclear membrane has disappeared. The chromosomes of which about thirteen can be seen, of varying shapes are arranged in a characteristic manner on the equator of a well-defined spindle, which presents a centrosome at each pole. The cytoplasm is somewhat granular in aspect and presents a loose meshed arrangement.

Fig. 8. Normal young spermatocyte of the second order situated about 30 μ from the basement membrane of a seminiferous tubule. The nucleus exhibits a nuclear membrane within which coarse masses of chromatin are arranged upon an irregular linin network; no nucleolus or intranuclear body is seen within the nucleus. The cytoplasm, which is relatively abundant and is finely granular, does not show any archoplasm, but contains a large chromatoid body, partly fragmented.

Fig. 9. Normal spermatocyte of the second order, showing homotype division, situated about one third of the distance from the basement membrane towards the lumen of a seminiferous tubule. The nuclear membrane has disappeared. A well marked spindle figure is seen with a centrosome visible at the lower pole. At the equatorial plane of the spindle about eighteen pairs of chromosomes are seen; these are mostly imperfectly rounded in appearance, but present obvious irregularities of outline. Below and to the left a large darkly stained mass is seen, probably a chromatoid body. The cytoplasm, which is abundant, is clear and granular in aspect, and is bounded by a sharp margin.

Fig. 10. Normal young spermatid situated about 25 μ from the basement membrane of a seminiferous tubule. The nucleus presents a well defined nuclear membrane, within which are disposed upon a linin network masses of chromatin usually of small size, four, however, being larger than the rest. Above and to the right an archoplasmic vesicle is seen lying upon the nucleus and containing an intermediate body closely applied to the nuclear membrane. On the opposite aspect of the nucleus, embedded in the cytoplasm, is a chromatoid body near which is a centrosome. The cytoplasm is relatively abundant, stains faintly, and exhibits a reticular structure.

Fig. 11. Normal spermatid in further stage of development, situated near the lumen of a seminiferous tubule. The nucleus while still retaining its nuclear membrane stains nearly uniformly. Below, lying outside the nucleus is seen a chromatoid body and close to it a small darkly staining centrosome; outside the latter a collar (manchette) is recognizable. The cytoplasm which lies below the nucleus, is abundant and contains many small fatty masses together with the remains of the archoplasm; it exhibits a coarsely reticular structure.

Fig. 12. Normal spermatid in more advanced stage of development, one of a collection attached to a cell of Sertoli lying on the basement membrane. The nucleus has been converted into a spermatozoon head at the base of which are seen two centrosomes, from one of which, almost in contact with the nucleus, the filament arises. The latter is covered with very fine darkly staining granules formed by mitochondria, and is surrounded by coarsely reticular cytoplasm, containing many fatty masses.

Fig. 13. Cell of Sertoli situated close to the basement membrane of a seminiferous tubule. The nucleolus, which exhibits a well-defined nuclear membrane, contains a moderate amount of chromatin arranged irregularly upon a linin network, a large nucleolus being also visible. The surface of the nucleus exhibits several clefts which extend some distance into the nucleoplasm, one of these being longitudinal. The cytoplasm is abundant, but its boundaries are only partly evident.

Fig. 14. Spermatocyte of the first order in spireme stage, situated nearer to the basement membrane than to the lumen of a seminiferous tubule. At the lower end of the nucleus is an intranuclear body, which lies at the lower part of the enlarged intranuclear vacuole, below which is some moderately stained material, the nature of which is not clear. Above the nucleus is an archoplasmic mass. The cytoplasm is fairly abundant and is granular.

Fig. 15. Spermatocyte of the first order undergoing necrosis, situated about 30 μ from the basement membrane of a seminiferous tubule. The nucleus has lost its characteristic outline, the nuclear membrane not being recognizable and the chromatin being distributed in masses presenting a mossy aspect. No nucleolus or intranuclear body is visible. The nucleus, as also the cytoplasm, is contracted, but can nevertheless be recognized to be that of a spermatocyte of the first order. The cytoplasm stains deeply by basic dyes, presenting a granular appearance instead of the finely reticular character usually observed.

Fig. 16. Dividing spermatocyte of the first order, undergoing necrosis, situated about 25 μ from the basement membrane of a seminiferous tubule. The cell has become diminished in size. A distorted spindle is recognizable, on the equatorial plane of which chromosomes altered in aspect are distributed. The cytoplasm presents a dense granular appearance and stains deeply with basic dyes.

Fig. 17. Degenerated spermatocyte of the first order situated about 15 μ from the basement membrane of a seminiferous tubule. This cell, diminished in size like that in the preceding Figure, can be identified by the remains of its spireme, which should be compared with that in Fig. 5. No nuclear membrane is present. The cytoplasm is dense and granular.

Fig. 18. Spermatocyte of the first order in contact with the basement membrane of a seminiferous tubule. The nucleus contains three vacuoles, one of which, the smallest, is somewhat indistinctly seen. The nuclear chromatin, which is condensed, is spread out over the vacuoles. The largest vacuole contains an intranuclear body, stained brown, the other two are empty. The cytoplasm, which is finely granular, contains several large masses, staining with basic dyes, the nature of which is uncertain.

Fig. 19. Dividing spermatocyte, situated within about 20 μ of the basement membrane of a seminiferous tubule. The cell which is of unusually large size exhibits irregular and multipolar mitoses. One well defined spindle is seen, some of the fibres of which are directed upwards and towards the right, where another pole is indicated. Most of the chromosomes, which assume the form of rounded masses, are distributed upon the spindle fibres, but three groups and one single chromosome are not connected with these fibres. The cytoplasm is abundant and finely granular. A cell of this type is the precursor of the multinucleated cell shown in the next Figure.

Fig. 20. Large multinucleate cell, situated mid-way between the basement membrane and the lumen of a seminiferous tubule. In all two large and five small nuclei, embedded in the cytoplasm of the cell, are seen. The arrangement of the chromatin network of the nuclei should be compared with the appearance presented by normal nuclei in the various stages exhibited by the germinal cells. The cytoplasm of the cell mass is abundant, presents a coarse granular structure and contains two archoplasmic masses, together with a chromatoid body lying upon the larger nuclear mass. No vacuoles are seen.

Fig. 21. Spermatocyte of the second order situated about 12 μ from the basement membrane of a seminiferous tubule. The cell which is of large size exhibits amitosis, the nucleus being incompletely divided into two unequal parts by a deep cleft; indications of small clefts above and to the right are also recognizable. The arrangement of the chromatin of the nucleus resembles fairly closely that in spermatocytes of the second order (cp. Fig. 8). The cytoplasm is abundant and granular; it contains an archoplasm and a chromatoid body, the latter being broken up into several fragments.

Fig. 22. Cell lying 15 μ from the basement membrane. The characters of the cell are so altered that it is not possible to identify it with certainty, but it resembles a spermatocyte of the second order more than any other cell form. The nucleus contains a large vacuole completely surrounded by the remains of the nucleoplasm. Below is a black granule, contained in a small vacuole, completely embedded in the condensed nuclear remains; the origin of this structure is uncertain. Free in the cytoplasm are two small granules derived from the chromatoid body. The cytoplasm, which is granular in appearance, does not present any archoplasm.

Fig. 23. Cell situated at the lumen of a seminiferous tubule. ?Altered spermatocyte of the second order. A large archoplasmic vesicle is formed, to the left of which are seen the cup shaped remains of the nucleus still exhibiting a network arrangement of the chromatin. Below and to the left, situated in the cytoplasm, which is coarsely granular, two darkly staining masses representing chromatoid bodies are seen. Lying upon the cup shaped nuclear remains is a small vesicle containing a central granule. No archoplasm is recognizable.

Fig. 24. Large cell mass presenting many nuclei each containing a large vacuole; it is situated about 25 μ from the basement membrane of a seminiferous tubule. The number of nuclei is altogether 9, but only 5 are represented. The nuclear chromatin, darkly stained, is spread out over the greater part, but not the whole of the surface of the vacuoles. In addition, there are about 12 smaller masses, of which only 9 are shown in the sketch. Some of these appear to be chromatoid bodies; others may also be of the same nature. The cytoplasm, which is dark, is finely granular.

Fig. 25. Large multivacuolated cell mass, situated 15 μ from the basement membrane of a seminiferous tubule. Five vacuoles of varying size are seen; the larger of these have obviously each arisen within a nucleus, the chromatin of which has been compressed to form a thin covering for the vacuole; the vacuoles are filled with clear structureless material presumably fluid. The cytoplasm, which is finely granular and is degenerated, taking up basic dyes more readily than does healthy cytoplasm, contains numerous darkly staining granules, presenting little evidence of structure. The granules shown in the sketch in connection with the largest vacuole lie outside the structureless material with which it is filled.

Fig. 26. Spermatid situated about 15 μ from the basement membrane. In the nucleus of this cell a large vacuole situated excentrically is completely embedded, the nuclear chromatin being considerably compressed. To the left is an archoplasmic mass, between which and the nucleus is an archoplasmic vesicle containing an intermediate body. Above, a chromatoid body is seen breaking up into small darkly stained fragments. The cytoplasm presents a granular aspect and is shreddy at the edges.

Fig. 27. Young spermatid, situated close to the basement membrane. An enlarged archoplasmic vesicle has pressed upon the nucleus, which has become cup shaped. No intermediate body is recognizable. Above and to the right an archoplasm is seen. Below and to the left several small granules are visible, probably representing a chromatoid body. The cytoplasm, which is granular, presents a sharp outline.

Fig. 28. Cell situated about 12 μ from the basement membrane. This cell is a spermatid with an enlarged archoplasmic vesicle compressing the nucleus, the chromatin of which is disposed as a darkly stained cup shaped mass lying below and to the left. Near this a small rounded mass, representing a chromatoid body, is seen surrounded by a clearer area. Close by is a smaller darkly stained granule. The cytoplasm is finely granular. An archoplasm can be seen above and to the left.

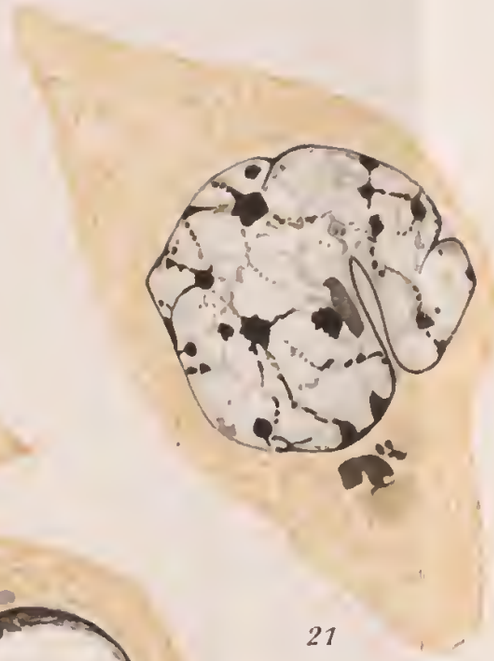
Fig. 29. Degenerated spermatid lying close to the lumen of a seminiferous tubule. The spermatozoal head is formed, but is degenerated and curled up in the cytoplasm which is filled with numerous fatty masses.

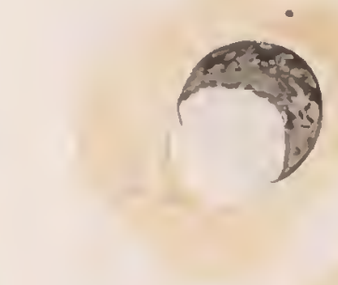
Fig. 30. Seminiferous tubule thirteen days after the application of X rays. All the seminal cells have disappeared. Externally the basement membrane is seen. Distributed within the tubule are numerous nuclei of cells of SERTOLI the cytoplasm of which forms a coarse framework, within the meshes of which fatty masses, more or less darkly stained with osmic acid, are sparsely scattered. No definite lumen is present in the tubule.

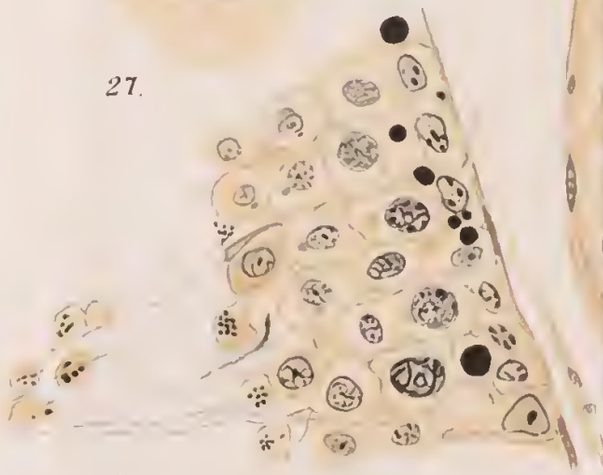
Fig. 31. Seminiferous tubule eleven days after the application of X rays. The seminal cells have disappeared, their place being taken by numerous fatty masses stained in varying degrees of darkness by osmic acid. The nuclei seen are those of cells of SERTOLI, the cytoplasm of which forms a loose meshwork throughout the tubule. The lumen of the tubule has become obliterated.

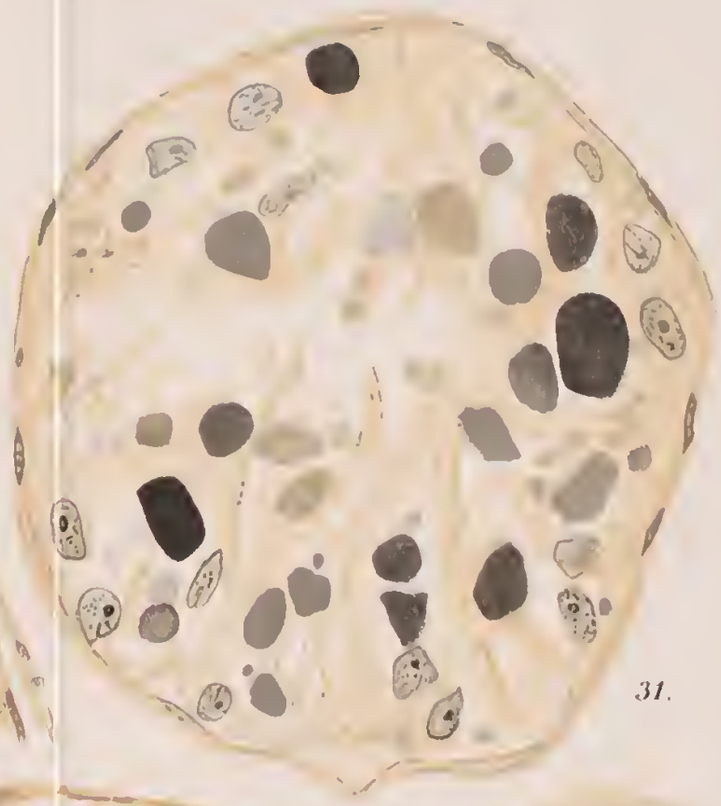
Fig. 32. Portion of a healthy seminiferous tubule for comparison with the two preceding Figures. To the left the basement membrane is seen. To the right of this lie the seminal cells, among which are recognizable spermatogonia (in contact with the basement membrane) cells of SERTOLI, spermatocytes of the first order, spermatids and spermatozoa, the tails of the latter being free in the lumen of the tubule. Near the basement membrane large fatty masses are seen; towards the lumen of the tubule collections of small fatty globules lying within the cytoplasm of the spermatids are shown.

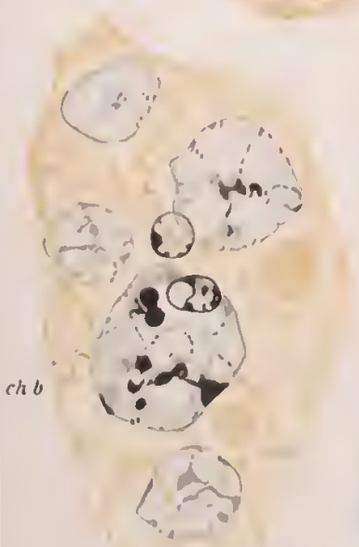
19.


21


27.


32.


31.

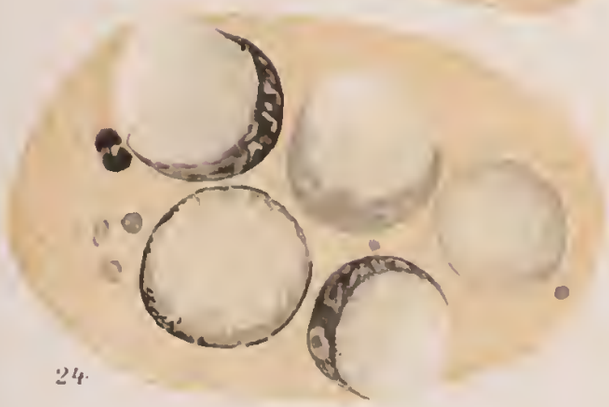

ch b

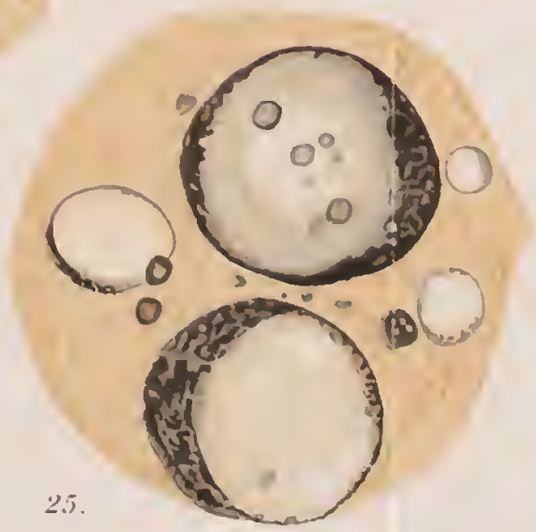
20

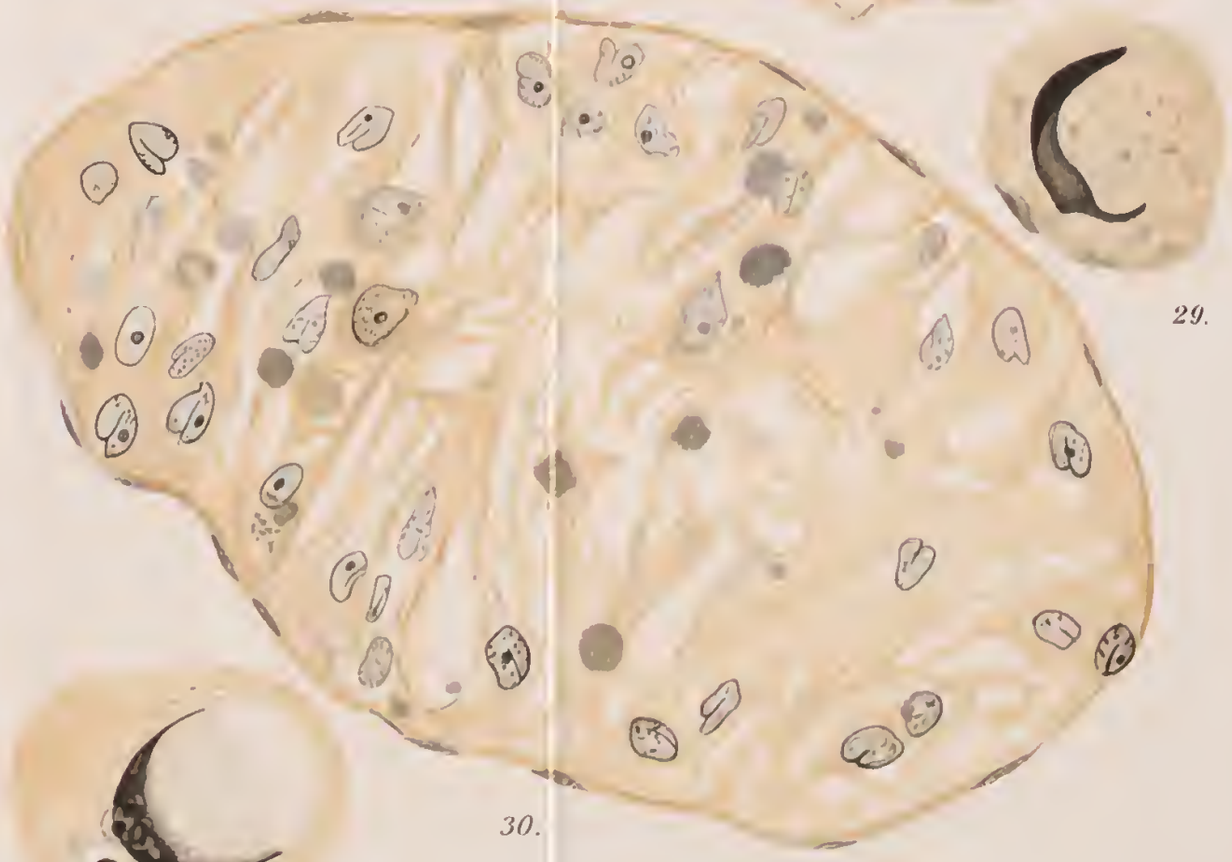
22.

26.

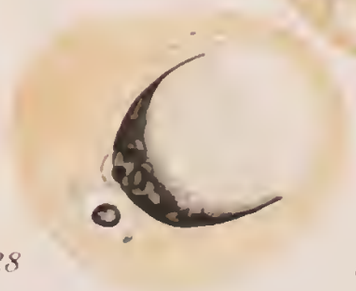
23.


24


25.


30.

29.


28

0 μ 100 μ 200 μ

G Arnold del

Barratt u. Arnold Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig Lith. Anst. v. Johannes Arndt Jena.

1

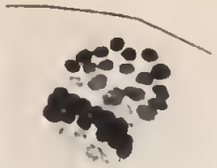
2

4

5

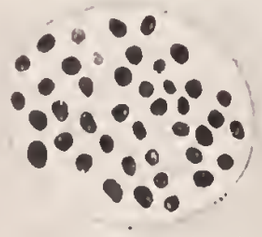
6

7



8

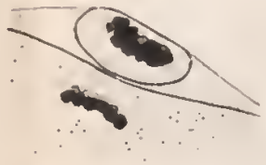
3



9

10

11



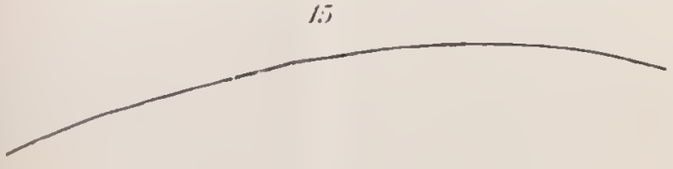
12

13

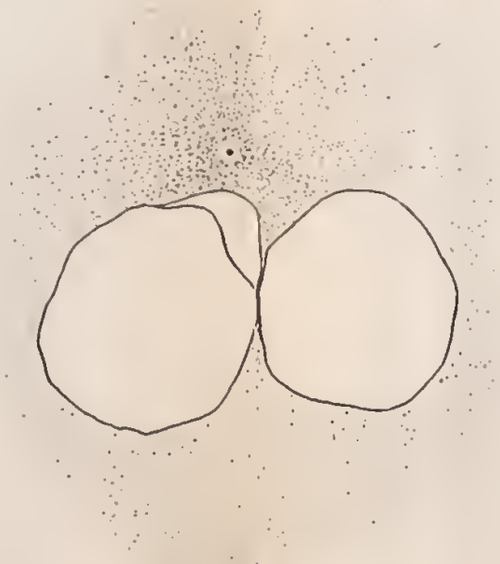
14

18

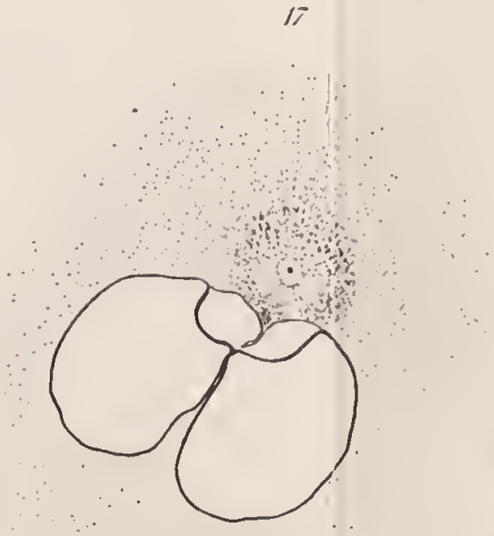
15



16



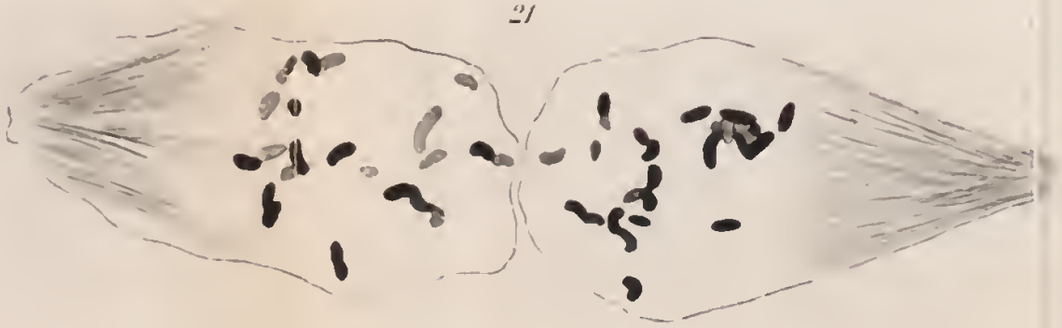
17



19

20

21



Herrer u. Winter, Frankfurt a/M.

Analisi comparativa della sostanza cromatica nelle mitosi di maturazione e nelle prime mitosi di segmentazione dell' uovo dell' Artemia sessuata di Cagliari (univalens) e dell' uovo dell' Artemia partenogenetica di Capodistria (bivalens).

Del

Dr. Cesare Artom.

(Dall' Istituto di Zoologia della R. Università di Cagliari.)

Con tavola XXV—XXVII.

Introduzione.

Come è noto le osservazioni di Brauer (5), hanno dimostrato per l'uovo dell' *Artemia salina* di Capodistria, la possibilità di una fecondazione autogamica tra pronucleo dell' uovo e secondo globulo polare. E, siccome ciascuno di questi contiene 84 cromosomi, così il Brauer presuppone, che da questa sorta di atto fecondativo, si sviluppino Artemie a 168 cromosomi. Nella maturazione poi delle cellule germinative di tali Artemie, avverrebbe la riduzione nel numero dei cromosomi: si comprende quindi come negli oociti delle Artemie a 168 cromosomi, debbano comparire 84 tetradi.

La massima parte delle uova di *Artemia*, si sviluppa però (secondo Brauer) non già per fecondazione autogamica, ma invece nel modo normale, come si sviluppano tutte le uova a partenogenesi cosidetta obbligatoria; e cioè dopo la formazione e l'emissione del solo primo globulo polare. Evidentemente da uova di tal genere devono svilupparsi Artemie a 84 cromosomi. I cromosomi però di queste Artemie devono presupporsi bivalenti. Infatti, siccome tutti gli oociti di Artemia (secondo Brauer) contengono 84 tetradi, così, se viene emesso solo il primo globulo polare, devono rimanere nell' uovo 84 diadi.

In conclusione quindi secondo Brauer la massa totale di sostanza cromatica risulta essere uguale, sia per le uova che si sviluppano per fecondazione autogamica, sia per le uova che si sviluppano in modo normale dopo l'emissione del primo globulo polare. Il numero dei cromosomi invece, risulterà essere diverso: e cioè le uova e gli embrioni di *Artemia* conterranno nel primo caso 168 cromosomi semplici: le uova e gli embrioni di *Artemia* conterranno invece nel secondo caso 84 cromosomi bivalenti.

Le cellule germinative delle Artemie a 84 cromosomi bivalenti, non subirebbero poi, a differenza delle cellule germinative delle Artemie a 168 cromosomi semplici, la riduzione nel numero dei cromosomi. Ciò non ostante, il Brauer osserva che anche negli oociti delle Artemie a 84 cromosomi, appaiono 84 tetradi. Per spiegare l'origine di queste tetradi, è necessario ammettere che durante tutto il corso dell' ontogenesi, i cromosomi bivalenti delle Artemie a 84 cromosomi permangano scissi nei loro primitivi componenti, senza che mai riescano a fondersi in un' unica massa di cromatina. Ed in seguito nella maturazione dell' uovo di tali Artemie gli 84 cromosomi bivalenti, raddoppiando ciascuno la propria massa di cromatina, diventerebbero quadrivalenti.

In conclusione, secondo Brauer, l'uovo dell' *Artemia salina* di Capodistria, matura in modo ben diverso dalle altre uova partenogenetiche. Mentre invece per un uovo di un organismo come l'*Artemia salina* di Capodistria a partenogenesi indefinita, era da presupporsi uno schema tipico di maturazione di uovo partenogenetico.

Successivamente Petrunkewitsch (17) dopo avere osservato che l' uovo dell' *Artemia salina* di Capodistria e di Odessa emette solo il primo globulo polare, interpreta le figure del Brauer, in cui viene descritta la fecondazione autogamica tra pronucleo dell' uovo e secondo globulo polare, como figure di uova patologiche. Petrunkewitsch infine concordemente a Brauer considera come quadrivalenti gli 84 cromosomi della vescicola germinativa dell' uovo di *Artemia*.

Infine recentemente Fries (6) studiò la maturazione dell' uovo partenogenetico dell' *Artemia salina* di Odessa. Egli, comparando i primi stadii dell' oogenesi dell' *Artemia*, con i primi stadii dell' oogenesi di *Branchipus pisciformis* (di cui le uova devono essere fecondate), mentre osserva negli oociti di *Branchipus* la fase di sinapsi e la susseguente riduzione nel numero dei cromosomi, esclude invece che ciò possa avvenire per gli oociti di *Artemia*. Di conseguenza nella vescicola germinativa dell' uovo di *Artemia*, egli osserva 84 cromosomi a diade e successivamente l'emissione del primo globulo polare.

La maturazione dell' uovo partenogenetico di *Artemia* è così (secondo le più recenti ricerche) ricondotta al tipo di maturazione di tutte le altre uova partenogenetiche: ed il numero dei cromosomi dell' *Artemia salina* partenogenetica di Odessa è stabilito essere sempre 84 e mai in nessun caso 168.

Le deduzioni di Fries debbono essere poi estese anche all' *Artemia salina* di Capodistria, che sappiamo avere normalmente lo stesso numero dei cromosomi dell' *Artemia salina* di Odessa e in cui per l'appunto, a differenza di questa, la partenogenesi non è mai turbata dall' apparire della sessualità.

Ad ogni modo le presenti ricerche hanno anche lo scopo di confermare per l' uovo dell' *Artemia* di Capodistria, quanto Fries ebbe ad osservare per l' uovo dell' *Artemia* di Odessa. Ma essenzialmente con queste ricerche mi propongo di stabilire la diversità di origine e di costituzione della sostanza cromatica dell' uovo di due specie così vicine tra loro da potere essere morfologicamente confuse l'una coll' altra. Diversità di origine e di costituzione, che implica necessariamente, una profonda divergenza nel modo di maturazione delle cellule germinative, e di conseguenza: nell' un caso la partenogenesi, e nell' altro la fecondazione.

Queste ricerche hanno infine lo scopo di decidere, se per il numero dei cromosomi l'*Artemia salina* di Capodistria è, rispetto all' *Artemia salina* di Cagliari, tetravalente come dimostrerebbero le ricerche di Brauer, oppure solamente bivalente, come dimostrerebbero le ricerche di Fries sull' *Artemia* di Odessa.

E per l'appunto, avendo queste mie ricerche confermate le deduzioni di Fries, l'*Artemia salina* di Cagliari, appare legata coll' *Artemia salina* di Capodistria, con quello stesso rapporto nel numero dei cromosomi, con cui sono legate in qualche caso, sia tra gli animali sia tra i vegetali, le due specie immediatamente vicine. Di più ancora, come tra i vegetali del genere *Alchemilla*, *Antennaria*, *Hieracium* ect., (7 e 24) avviene che la specie a numero doppio di cromosomi, si riproduce esclusivamente per apogamia od aposporia, od anche per partenogenesi, senza cioè che intervenga atto fecondativo; così avviene per la specie di *Artemia* di Capodistria, a numero doppio di cromosomi la quale come si è detto è per l'appunto indefinitamente partenogenetica.

Per queste considerazioni e per altri fatti già accennati (3), credo opportuno dedurre quanto Gates (7) ha dedotto in un suo recente lavoro sulle cellule germinative e sulle cellule somatiche dell' *O. gigas* (un mutante dell' *O. Lamarckiana*): di valutare cioè ugualmente il fatto del raddoppiamento del numero dei cromosomi dell' *Artemia partenogenetica*

di Capodistria; e di considerare quindi tale fatto, come il risultato di un fenomeno evolutivo dell' *Artemia sessuata* di Cagliari a numero minore di cromosomi.

Materiale. Tecnica e generalità.

L'*Artemia salina* di Cagliari proviene dai bacini salanti delle saline di Cagliari. Le Artemie vennero raccolte nei mesi di Maggio e Giugno in acque a concentrazione dagli 8° ai 12° B. e subito fissate ed incluse.

L'*Artemia salina* di Capodistria proviene da pozzanghere a salsedine varia, che si formano nelle saline di Capodistria. Raccolsi, fissai ed inclusi io stesso il materiale nel settembre 1909 durante un mio soggiorno di circa un mese alla stazione Zoologica di Trieste. Debbo i più vivi ringraziamenti al Direttore Sigr. Prof. C. Cori, per l'ospitalità concessami.

Come liquido fissatore usai quasi sempre il sublimato picro-acetico a freddo: ottenni qualche altra volta anche ottimi risultati usando come fissatore una soluzione di Formol-picro-acetico. Le sezioni vennero quasi sempre colorate con l'Ematossilina di Heidenhain e differenziate successivamente con allume di ferro. Come coloranti plasmatici adoperai l'Eosina molto diluita con acqua, oppure il Bordeaux R. Altri coloranti (Emallume, Ematossilina di Delafield, Safranina) vennero pure usati allo scopo di controllare i risultati ottenuti con l'Ematossilina ferrica. Con questo colorante però, usando la massima cura nel differenziare, si ottengono i migliori risultati. I cromosomi cioè, risultano sempre perfettamente risolvibili, perchè, colorati in nero intenso, essi spiccano coi loro contorni netti e decisi sulla massa di protoplasma. Con qualunque altro colorante risulta invece sempre una grande imprecisione nei dettagli di struttura e di forma dei singoli cromosomi.

Nel presente lavoro si è dovuto trascurare lo studio delle prime fasi di maturazione dell'uovo delle due Artemie, perchè il materiale non si prestava per ottenere delle figure chiare su tali questioni così controverse. I cromosomi incominciano così ad essere studiati quando essi sono già disposti nella piastra equatoriale del 1° fuso di direzione. Parecchie fasi relative poi alla maturazione dell'uovo dell'*Artemia salina* di Cagliari e che non erano state descritte nel mio precedente lavoro (2) vengono qui raffigurate. Come pure sono qui raffigurati i centrosomi e i centrioli dell'uovo delle due Artemie. Questi ultimi non erano stati sino ad ora messi in evidenza nè da me nè da altri; e (come vedremo) uguali nell'aspetto, essi sono però diversi per la loro origine.

Nelle figure riportate, gli stessi stadii di sviluppo dell' uovo delle due Artemie, sono sempre ugualmente ingranditi: data questa perfetta corrispondenza nell' ingrandimento, le differenze di forma e di grandezza dei cromosomi delle due Artemie, nei varii stadii della maturazione dell'uovo, sono rese evidenti a prima vista.

Parte speciale.

Le tetradi nella vescicola germinativa dell' uovo dell' Artemia salina di Cagliari.

Come è noto 21 è il numero ridotto dei cromosomi dell' uovo dell' *Artemia salina* di Cagliari: l'uovo di tale *Artemia* viene normalmente fecondato dallo spermatozoo.

La fig. 1 rappresenta le 21 tetradi della vescicola germinativa di un uovo, già disposte in piastra equatoriale. Ciascuna tetrade è costituita di 4 granuli di forma elittica a due a due più intimamente uniti tra loro. La tetrade è ben definita solamente quando i quattro granuli che la costituiscono sono tutti perfettamente giacenti in uno stesso piano. Se ciò non avviene, un granulo della tetrade copre in tutto o in parte il granulo corrispondente: in tal caso (ed è il più frequente) le tetradi possono apparire come delle grosse diadi.

Non mi è stato possibile stabilire come prendano origine le tetradi stesse durante l'oscuro fenomeno della riduzione del numero dei cromosomi. Comunque avvenga tale fenomeno, sta il fatto che nella prima divisione di maturazione vengono allontanate le diadi e che nella seconda divisione, viene successivamente separato l'uno dall'altro, ciascun cromosoma delle diadi rimaste nell' uovo dopo l'emissione del 1° globulo polare.

Le tetradi sono poi più evidenti quando esse stanno disposte nel 1° fuso di direzione (fig. 2), perchè in tal caso ciascuna coppia di granuli è rivolta verso il rispettivo polo del fuso: tutti e quattro i granuli della tetrade, giacciono così in un sol piano.

Sulla quadrivalenza dei 21 cromosomi dell' oocito dell' *Artemia salina* di Cagliari, non può così essere elevato nessun dubbio. Le tetradi invece pare non sieno altrettanto evidenti nelle uova di altri crostacei inferiori (6, 11, 13) sebbene anche per queste uova, avvenga di certo come nell' uovo dell' *Artemia salina* di Cagliari, la riduzione nel numero dei cromosomi, l'emissione dei due globuli polari e la successiva fecondazione.

Nella fig. 3 è rappresentata poi una vescicola germinativa già raffigurata nel mio precedente lavoro. In questa vescicola germinativa,

non è avvenuta la riduzione nel numero dei cromosomi; invece di aversi così 21 tetradi, si hanno 42 cromosomi che io apprezzo come diadi. Evidentemente un uovo di tal genere può emettere solamente il 1° globulo polare: e se avviene questa divisione di maturazione, rimane nell' uovo il numero normale dei cromosomi. Un uovo di tal genere (dato questo comportamento della sostanza cromatica durante le fasi di maturazione), potrebbe anche essere partenogenetico.

Anche di fronte ai risultati sempre negativi delle mie esperienze, (1) non è da escludere così, che qualche rarissima generazione partenogenetica di *Artemia* pure a 42 cromosomi, possa coesistere in Cagliari accanto alle normali generazioni sessuate.

La fig. 4 rappresenta poi un' anafase del 1° fuso di direzione, in cui i cromosomi si sono appena allontanati dalla piastra equatoriale, e sono ancora tra loro uniti da filamenti forse di linina. In tale stadio il fuso appare molto dilatato; esso non ha ancora assunto quella forma regolare quale è data invece osservare in uno stadio successivo (fig. 5). I cromosomi sono qui regolarmente disposti ai margini di due piastre elittiche quasi a forma di corona. In un altro stadio invece (fig. 6) i cromosomi sono sparsi su tutta la superfice delle due piastre: essi sono perfettamente risolvibili, specialmente nella piastra inferiore in cui si contano 21 diadi molto evidenti.

Nella fig. 7 poi le due piastre di cromosomi, disposte secondo due corone si sono già allontanate l' una dall' altra e sta così per essere emesso il 1° globulo polare nel modo già descritto nel mio precedente lavoro.

Il primo globulo polare appena emesso (fig. 8) è di forma tondeggiante, con i cromosomi raggruppati in un' unica massa. In esso il protoplasma appare abbastanza omogeneo: esso è solo differenziato alquanto attorno alla massa di cromatina. Presso la base del globulo stesso, notasi poi una piccola sfera di protoplasma leggermente colorata coll' Ematossilina ferrica e che è forse da considerarsi come il resto del fuso.

Emesso il 1° globulo polare, i cromosomi a diade rimasti nella vescicola germinativa, si dispongono immediatamente in fuso per l'emissione del 2° globulo polare (fig. 9). In una anafase avanzata del 2° fuso di direzione, i cromosomi sono poi disposti secondo due corone più piccole, simili però a quelle che si osservano negli stessi stadii del 1° fuso di direzione (fig. 5).

Nella fig. 11 il 2° globulo polare è già formato, ma non ancora emesso; la cromatina rimasta nell' uovo è ancora bene evidente, mentre in uno stadio successivo (fig. 12) la cromatina rimasta nell' uovo, è già entrata

nel cosidetto stadio di riposo, ed essa appare già limitata dal resto del protoplasma da una sottile membrana nucleare.

Infine il 2° globulo polare viene emesso fuori dall' uovo (fig. 13). Esso è in grandezza all' incirca la metà del 1° globulo polare (fig. 8) appunto perchè contiene la metà di sostanza cromatica.

Successivamente il pronucleo femminile dopo avere assunto una forma sferica, e un' apparenza quasi perfettamente acromatica, si porta verso il centro dell' uovo (come ho raffigurato nel mio precedente lavoro). L'uovo è cosi pronto per essere fecondato.

Come si vede chiaramente, l'uovo dell' *Artemia salina* di Cagliari emette in modo del tutto regolare il 1° e il 2° globulo polare come tutte le uova che devono essere fecondate.

Centriolo e centrosoma spermatico nella fecondazione dell' uovo dell' Artemia salina di Cagliari.

Dopo le ricerche di Meves (15), di Vejdowsky (23) ect. si considera attualmente il centriolo come l'unica parte della sfera permanente in tutte le cellule anche durante il cosidetto stato di riposo. Ed il Vejdowsky ammette che durante il periodo preparatorio della cariocinesi, «die Centroplasmen nur durch die Tätigkeit der Centriolen hervorgerufen werden können« (23, p. 80). Dati questi nuovi concetti, si comprende come la teoria di Boveri sulla fecondazione sia oggidì alquanto modificata. Si ammette cioè (12 e 10) che il solo centriolo spermatico (in definitiva la parte centrale del centrosoma di Boveri) entrato collo spermatozoo nell' uovo, presieda colla propria attività fisiologica alla formazione delle varie zone concentriche di periplasma e dei filamenti asteroidi che costituiscono il cosidetto aster spermatico, mentre il centriolo ovarico normalmente inattivo degenererebbe durante le fasi di maturazione dell' uovo. Tranne poche eccezioni (16), quasi tutti gli autori (10) sono dunque concordi nel ritenere che il centriolo spermatico dia in definitiva l'impulso a tutti quei processi di assimilazione che conducono le nucleine e le varie altre parti di sostanza vivente contenute nell' uovo, ad assimilare, a raddoppiarsi e a dividersi. Ed il Vejdowsky per esempio, non esita ad ammettere che il centriolo spermatico intanto che cresce, spanda attorno a sè «eine fermentative Tätigkeit« prima »auf das umliegende Cytoplasma«, poi »auf die Substanzen der secundären Centroplasmen«. I filamenti asteroidi possono poi spiegarsi, secondo il Vejdowsky, »auf mechanischem Wege als Diffusionsströmungen« (p. 82). Le recenti ricerche sulla

partenogenesi artificiale, non sono poi in contraddizione con la sopraesposta teoria fisiologica della fecondazione. E cioè i reagenti chimici impiegati dal Loeb (14) talvolta avrebbero la proprietà di stimolare l'attività normalmente latente del centriolo ovarico, e quindi darebbero luogo alla formazione di un aster dal quale poi per divisione prenderebbero origine due centrosfere con centriolo, simili perfettamente a quelle che si osservano nella fecondazione normale (9) e (25). Normalmente però pare che i reagenti chimici adoperati dal Loeb, attivino la formazione assolutamente ex novo di un aster dal quale provengono in definitiva due centrosfere pure perfettamente normali (19 Tav. VIII, fig. 13) in mezzo alle quali pare però non esista assolutamente il centriolo (8 p. 300).

In complesso da una lunga serie di esperienze e di osservazioni pare che si possa ammettere in conclusione che nel centriolo spermatico vi sieno delle sostanze specificamente attive e di un' attività chimica identica a quella dei reagenti adoperati nelle esperienze sulla partenogenesi artificiale.

L'eccitamento allo sviluppo di un uovo, come già aveva sostenuto Boveri sin dal 1892, avrebbe la sua causa in definitiva in una sostanza chimica che viene portata nell' uovo dallo spermatozoo. Ciò premesso, per quanto riguarda anzitutto il centriolo ovarico dell' *Artemia* di Cagliari, come ho già fatto notare (2), si osserva in qualche raro caso nel mezzo dell' uovo, un centriolo ovarico collocato al centro di una sfera di centroplasma a margini bene delimitati. Concentricamente a questa sfera possono organizzarsi due altre zone di protoplasma differenziato.

Normalmente però il centriolo ovarico dell' *Artemia* di Cagliari non è visibile; tant' è che nelle divisioni di maturazione dell' uovo non è mai dato osservare ai poli delle varie figure mitotiche, nè centriolo nè tanto meno sfere raggiate di protoplasma. E come ho già fatto notare, il pronucleo femminile divenuto vescicoloso e perfettamente acromatico, emigra al centro dell' uovo, senza che attorno ad esso, si noti mai traccia di irradiazione protoplasmatica. Credo quindi che il centriolo ovarico (se esiste) per la sua estrema piccolezza sfugga all' osservazione; e che esso in ogni modo debba considerarsi nei casi normali, come fisiologicamente inattivo[1]). —

Per quanto riguarda poi il processo della fecondazione, e cioè l'entrata dello spermatozoo nell' uovo, rimando senz' altro al mio precedente

[1]) L'attività fisiologica del centriolo ovarico (quasi si trattasse di uova partenogenetiche) presumibile, come si è visto, per qualche rarissimo uovo dell' *Artemia salina* di Cagliari (2. p. 504) potrebbe essere messa in relazione col fatto che per l'appunto per qualche rarissimo uovo dell' *Artemia salina* di Cagliari, la maturazione pare che avvenga come per le uova destinate a svilupparsi partenogeneticamente (fig. 3).

lavoro. In seguito lo spermatozoo, entrato nell' uovo, si trasforma in un nucleo vescicoloso in cui la cromatina appare suddivisa in minutissime particelle. In tale stadio il pronucleo maschile è pronto ad emigrare al centro dell' uovo, ove per l'appunto trovasi normalmente di già il pronucleo femminile. Bene evidente accanto al pronucleo maschile osservasi poi il centriolo spermatico, il quale in tale stadio ha già organizzato attorno a sè le varie sfere di protoplasma a struttura raggiata, l'insieme delle quali costituisce per l'appunto il cosidetto aster spermatico.

Successivamente il pronucleo maschile col proprio aster raggiunto il centro dell' uovo (fig. 15) è assai prossimo a prendere contatto col pronucleo femminile. Infine nelle fig. 16 e 17 i due pronuclei sono a contatto l' uno dell' altro. In tale stadio le varie sfere di protoplasma raggiato attornianti il centriolo sono cresciute di molto. Tra queste sfere di protoplasma se ne distingue anzitutta una costituita di protoplasma a struttura assai finemente raggiata (centroplasma). Nel centro di questa sfera sta il centriolo. Concentricamente a tale sfera (che corrisponde io credo al centrosoma di Boveri) sono disposte poi altre due zone di protoplasma a struttura raggiata molto evidente, di cui l'interna appare più chiara di quella esterna. Questa zona esterna si diffonde poi raggiatamente tra i granuli di vitello. Tutto questo sistema di zone di protoplasma differenziato a struttura raggiata attornianti il centriolo, costituisce la cosidetta astrosfera. Da notarsi poi che in tale stadio, prima il solo pronucleo maschile, e poi ambedue i pronuclei, hanno le membrane nucleari fortemente coartate, quasi che dall' interno di essi fosse uscito violentemente una certa quantità di liquido. Comunque debba interpretarsi tale coartazione la quale potrebbe anche essere artificialmente prodotta dai reagenti, in seguito i due pronuclei (come ho già descritto) perfettamente accostati, assumono una forma regolare arrotondata ed appaiono quasi perfettamente acromatici.

La divisione dell' astrosfera non fu poi potuta seguire. Credo però che tale divisione avvenga subito dopo che i due pronuclei si sono accostati. Il fatto si è che quando ancora i due pronuclei sono allo stato di riposo, le due astrosfere sono già bene costituite; esse si trovano già ai due poli opposti e sta per organizzarsi il 1° fuso di segmentazione. Riassumendo, il processo della fecondazione dell' uovo dell' *Artemia salina* di Cagliari è molto simile a quello descritto dal Rückert per il *Cyclops strenuus* (20). Esso non si discosta da tutti i casi normali di fecondazione e cioè: il centriolo fisiologicamente attivo, atto ad organizzare attorno a sè le varie sfere concentriche di protoplasma

e atto ancora, dividendosi, a dove origine alle due astrosfere del 1° fuso di segmentazione, viene portato nell' uovo dallo spermatozoo.

Le prime mitosi di segmentazione dell' uovo dell' Artemia salina di Cagliari.

Nel mio precedente lavoro sono descritte parecchie fasi relative all'unione dei due pronuclei. Come è già stato fatto notare (2 fig. 33) anche quando il 1° fuso di segmentazione è completamente costituito, la cromatina paterna appare ben distinta dalla cromatina materna. Così pure nelle piastre equatoriali dei primi fusi di segmentazione, i cromosomi di ciascun pronucleo sono ragruppati in due masse ben distinte, separate anzi l'una dall' altra da una zona di protoplasma a finissimi granuli. I 42 cromosomi di questi primi fusi di segmentazione sono poi a forma di semiluna e variano notevolmente l'uno dall' altro specialmente per dimensione (fig. 18, 19, 20). In complesso pare si possa dedurre, che i cromosomi di ciascun pronucleo trovino i proprii omologi nei cromosomi dell' altro pronucleo. Si tratterebbe così di una doppia serie di cromosomi omologi: 21 di origine maschile e 21 di origine femminile. Tutte le cellule dell' *Artemia salina* di Cagliari sia quelle somatiche, sia quelle germinative, contengono così metà cromatina paterna e metà cromatina materna. Nelle cellule germinative poi durante il periodo della maturazione avviene il fenomeno della riduzione del numero dei cromosomi. Questo fenomeno, che secondo i concetti moderni è da ricondursi per l'appunto ad una fusione più o meno intima delle particelle dei cromosomi omologi, è quindi nel caso dell' *Artemia salina* di Cagliari, come in tutti i casi di specie sessuate, in istretta dipendenza coll' origine per atto fecondativo del primo fuso di segmentazione. E cioè nelle cellule germinative durante il cosidetto stadio di sinapsi i cromosomi maschili, per una specie di affinità con i corrispondenti cromosomi femminili, si può ammettere che si uniscano insieme: di qui la riduzione nel numero dei cromosomi, la comparsa delle tetradi e le due successive divisioni di maturazione. Dati tutti questi fenomeni assai complessi, ma tutti intimamente collegati l'uno coll' altro, solamente con l'atto fecondativo può essere infine ristabilito nell' uovo il numero normale dei cromosomi.

Nella fig. 21 è poi rappresentata un' anafase avanzata del 1° fuso di segmentazione. L'uovo non è ancora diviso: i cromosomi sì sono però già allontanati dalla piastra equatoriale e stanno per costituire i nuclei dei due primi blastomeri. In tre sezioni consecutive delle quali

una sola è qui riportata, sono per l'appunto contenuti 84 cromosomi che verranno ripartiti in numero di 42 per ciascun blastomero.

Nella fig. 22 è poi rappresentato un primo fuso di segmentazione visto di profilo, nel quale i filamenti del fuso non sono ripartiti in due fasci ben distinti come nella fig. 33 del mio precedente lavoro (2): i due pronuclei sono cioè perfettamente fusi insieme e formano un unico fuso di segmentazione. I filamenti del fuso appaiono poi costituiti di sostanza ben diversa e ben distinta dalla sostanza, che disposta raggiatamente secondo varie zone concentriche, costituisce le due grandi astrosfere.

Nelle fig. 23 e 24 sono poi raffigurati due casi abbastanza tipici di polispermia. In tali figure i centrioli non sono visibili, e neppure vi è traccia di astrosfere. Sono invece bene evidenti i filamenti dei varii fusi. Per questi filamenti nel caso rappresentato nella figura 23, pare che esistano almeno 6 punti di inserzione.

L'origine di tali poliaster è da attribuirsi, io credo, a casi di polispermia e precisamente ad una divisione anomala di varii centrioli spermatici. In tali figure la cromatina appare filamentosa invece che a granuli; essa è distribuita nel poliaster della fig. 23 in quattro fusi principali divisi in due coppie, per ciascuna delle quali vi è un punto comune di inserzione dei filamenti del fuso. Altri fasci fusoriali secondarii legano poi insieme i 4 fusi principali.

Nella fig. 24 è poi rappresentato un triaster tipico. La sostanza cromatica in istadio di anafase è ripartita in tre fusi. Per quanto non sia possibile analizzare la cromatina di tale triaster io credo ch'esso possa considerarsi come un caso tipico di dispermia. Anche in questo caso, come pare avvenga per le uova dispermiche di *Echinus*, è avvenuto probabilmente che due nuclei spermatici si sono fusi col pronucleo femminile. La figura tripolare deriverebbe poi dal fatto che dei due centrioli spermatici presenti nell' uovo, uno solo si sarebbe diviso (4).

Le segmentazioni anormali dell' uovo dell' *Artemia* di Cagliari sono però assai rare; generalmente l'uovo, dopo avere emesso i due globuli polari, si segmenta con tutta regolarità. — Come è noto la segmentazione è totale; la fig. 25 rappresenta per l'appunto uno dei nuclei dei due primi blastomeri, in cui i 42 cromosomi sono disposti secondo una piastra equatoriale.

La maturazione dell' uovo dell' Artemia salina di Capodistria.

Fries (6) studiando gli oociti giovani dell' *Artemia salina* partenogenetica di Odessa, constata la presenza di 84 filamenti di cromatina;

all' incirca 84 cromosomi egli trova negli oogoni e nelle cellule somatiche di tale *Artemia*; negli oociti in accrescimento egli non osserva lo stadio di sinapsi ed infine nelle piastre equatoriali del 1° fuso di direzione egli osserva 84 cromosomi a diade. Giustamente egli conchiude che nell' oocito dell' *Artemia partenogenetica* di Odessa, non vi è riduzione nel numero dei cromosomi.

Le mie osservazioni sull' uovo dell' *Artemia salina* di Capodistria, incominciano quando i cromosomi sono nella vescicola germinativa già disposti secondo la piastra equateriale del 1° fuso di direzione. In tale stadio (fig. 26) i cromosomi sono tutti perfettamente risolvibili. Essi, in numero di 84, sono molto diversi l'uno dall' altro per forma e per grandezza. Inoltre ancora, essi sono già visibilmente doppi; la divisione longitudinale che separerà in due parti ogni singolo cromosoma, non è però ancora così evidente come negli stadii successivi. Risulta così come per l'*Artemia* di Odessa, che i cromosomi degli oociti dell' *Artemia* di Capodistria non sono per nulla formati di quattro granuli come vorrebbero le osservazioni di Brauer. Infatti colorando con diversi coloranti, ma specialmente coll' Ematossilina, e spingendo il differenziamento con l'allume di ferro sino agli estremi limiti, non ho mai potuto osservare neppure una sola volta che i cromosomi abbiano la parvenza di essere tetravalenti. Mentre invece usando gli stessi metodi citologici, la tetravalenza risulta, come si è visto chiara e indiscutibile per i cromosomi della vescicola germinativa dell' uovo dell' *Artemia* di Cagliari. Escludo quindi in modo assoluto che i cromosomi degli oociti dell' *Artemia salina* di Capodistria sieno foggiati a tetrade e concordemente con Fries ritengo che anche per tale *Artemia*, manchi la fase di sinapsi e la susseguente riduzione nel numero dei cromosomi.

In uno stadio susseguente (fig. 27) gli 84 cromosomi della vescicola germinativa, appaiono in modo molto evidente divisi longitudinalmente; e per quanto riguarda la loro forma, si rileva ch' essi sono in ciascuna diade a forma di semiluna. Successivamente i cromosomi si dispongono in un fuso nel modo descritto sia da Brauer, sia da Fries.

Nelle fig. 28, 29 e 30 è per l'appunto descritta qualche fase relativa a questa prima ed unica divisione di maturazione dell' uovo dell' *Artemia salina* di Capodistria. Ai poli dei varii fusi non ho mai osservate le grosse sfere descritte da Petrunkewitsch e da Fries, ed inoltre non ho mai potuto scorgere traccia nè di centrioli nè di zone raggiate di protoplasma. Per quanto riguarda poi la formazione e l'emissione del 1° globulo polare, rimando senz' altro al lavoro del Brauer in cui queste fasi sono ampiamente raffigurate. Vi è solo da notare che in tale lavoro siccome

i cromosomi prima dell' emissione del globulo polare sono raffigurati come tetradi, così i cromosomi che rimangono nell' uovo dopo tale emissione, sono raffigurati como diadi. Come è già stato detto, io ritengo invece che i cromosomi che rimangono nell' uovo dopo l'emissione del 1° globulo polare, sieno cromosomi semplici.

In nessun caso ho poi potuto osservare quello che Brauer interpreta come emissione del 2° globulo polare. Al riguardo conviene notare però che la formazione di questo secondo globulo polare è raffigurata dal Brauer unicamente nella fig. 47. E le figure in cui viene descritta la fusione del pronucleo femminile col 2° globulo polare hanno poi tutta l'apparenza di figure anormali. Credo quindi che i nuclei raffigurati dal Brauer in procinto di fondersi insieme sieno da considerarsi come il risultato di un processo cariocinetico anormale avvenuto durante le fasi di maturazione dell' uovo. Per l'appunto sono state descritte recentemente per qualche uovo partenogenetico (*Nematus ribesii*, *Rhodites rosae*) le due divisioni di maturazione e l'emissione dei due globuli polari, in un modo che ricorda singolarmente le divisioni di maturazione descritte dal Brauer. Ed anzi lo Schleip (21) non esita di paragonare queste seconde divisioni di maturazione di uova partenogenetiche, in cui non è avvenuta la riduzione nel numero dei cromosomi, alle secondi divisioni, che secondo Brauer potrebbero qualche volta avvenire per l'uovo partenogenetico dell' *Artemia* di Capodistria. Queste seconde divisioni, piuttosto che divisioni normali, a me paiono dovute ad una specie di sgretolamento nella massa di ciascun cromosoma; e non credo quindi che questi pochi casi, probabilmente atipici possano infirmare la legge generale, che cioè: se non avviene il fenomeno della riduzione nel numero dei cromosomi e se quindi non avviene la formazione delle tetradi (che all' esame citologico possono poi essere più o meno evidenti) non può intervenire la seconda divisione di maturazione. In conclusione, concordemente col Petrunkewitsch, ritengo come patologici per l' uovo dell' *Artemia* di Capodistria, sia i casi di emisssione del 1° globulo polare, sia i casi di copulazione di questo globulo col pronucleo dell' uovo.

Qualche volta avviene poi di osservare nelle uova dell' *Artemia salina* di Capodistria che il pronucleo femminile ha assunto un aspetto vescicoloso (fig. 35, 36). Questi nuclei vescicolosi alle volte appaiono strozzati nel mezzo (fig. 34), qualche altra volta essi sono allungati e fortemente incurvati a forma di U. In quest' ultimo caso, sezionando trasversalmente le due branche del nucleo, appaiono in sezione due nuclei rotondi ed accostati (fig. 37). Se si volesse ammettere che questi nuclei vesci-

colosi, possano strozzarsi nel mezzo in modo completo, potrebbero prendere origine così due nuclei tondeggianti e perfettamente indipendenti. Se questi nuclei, risultato però sempre di una divisione atipica, si dispongono poi in un fuso, si comprende come possa prendere origine una figura come quella disegnata dal Brauer (fig. 44) in cui in realtà si osserva quanto si osserva nei fusi delle uova fecondate, e ciò l'indipendenza tra la cromatina di ciascun pronucleo.

Il centrosoma dell' uovo dell' Artemia salina di Capodistria.

Dopo un certo periodo di tempo, emesso il 1° globulo polare, la cromatina del pronucleo femminile entra nel cosidetto stadio di riposo, nel modo ampiamente descritto dal Brauer. E successivamente osservasi che il pronucleo femminile, divenuto tondeggiante e quasi acromatico, è bene delimitato da un membrana nucleare. Sino a questo punto dell' evoluzione dell'uovo, non è possibile mettere in evidenza il centriolo ovarico, il quale, molto probabilmente per la sua piccolezza rimane nascosto in mezzo ai granuli di vitello e sfugge così all' osservazione. Appena però il pronucleo femminile incomincia la sua emigrazione verso il centro dell' uovo, si osserva che è venuta formandosi un' astrosfera precisamente identica a quella che è andata organizzandosi attorno al centriolo spermatico nella fecondazione dell' uovo dell' *Artemia salina* di Cagliari (fig. 31). La sfera di protoplasma omogeneo attorniante il centriolo corrisponde al centrosoma di Brauer, e da esso si diparte una zona raggiata di protoplasma nella quale, precisamente come nell' astrosfera già descritta per l'uovo dell' *Artemia* di Cagliari, si differenziano due altre zone: una più chiara (interna) e una più oscura (esterna) dalla quale si dipartono raggiatamente insinuandosi tra i granuli di vitello i filamenti asteroidi (fig. 32).

La divisione del centrosoma di Brauer è poi descritta ampiamente nel suo lavoro, e ad esso rimando anche per la descrizione della messa in fuso della sostanza cromatica. Brauer osserva però in genere la divisione della sfera di centroplasma (centrosoma) prima che il pronucleo abbia raggiunto il centro dell' uovo: secondo le mie osservazioni invece risulta che di frequente la astrosfera è ancora indivisa, mentre il pronucleo si trova già al centro dell' uovo (fig. 32).

In conclusione quindi, a differenza dell' uovo dell' *Artemia salina* di Cagliari, esiste nell' uovo dell' *Artemia partenogenetica* di Capodistria un centriolo ovarico fisiologicamente attivo e che è destinato dividendosi a presiedere al 1° fuso di segmentazione.

Le prime mitosi di segmentazione dell' uovo dell' Artemia salina di Capodistria.

Appena che l'astrosfera si è divisa nel modo descritto da Brauer, la cromatina del pronucleo incomincia ad organizzarsi in cromosomi compatti. In questa profasi del primo fuso di segmentazione la membrana nucleare è ancora bene evidente (fig. 33). Successivamente, scomparsa questa membrana, i cromosomi si dispongono in un fuso che nel suo complesso, come rilevasi dalle figure contenute nel lavoro del Brauer, è simile a quello che osservasi per l' uovo dell' *Artemia salina* di Cagliari. — Nelle piastre equatoriali di questo primo fuso di segmentazione sono poi molto bene evidenti gli 84 cromosomi (fig. 38, 39 e 40) e che corrispondono perfettamente agli 84 cromosomi rimasti nell' uovo dopo l'emissione del 1° globulo polare. Essi infatti per quanto mutati individualmente di forma, conservano però inalterati i loro reciproci rapporti di grandezza. Talvolta è possibile raccogliere tutti i cromosomi in una sola sezione (fig. 40), qualche altra volta essi sono raccolti in due sezioni consecutive (fig. 38 *a*, *b* e fig. 39 *a*, *b*).

Piccole massecole di protoplasma delimitano poi in tale stadio la cromatina dal resto del citoplasma. I cromosomi poi dell' *Artemia salina* di Capodistria, non sono (come si vede) molto dissimili come forma da quelli dell' *Artemia salina* di Cagliari. Come dimensioni però singolarmente presi i cromosomi dell' *Artemia* di Capodistria appariscono sempre più grandi dei cromosomi corrispondenti dell' *Artemia* di Cagliari. Dato questo fatto, ed essendo 84 i cromosomi dell' una *Artemia* e 42 quelli dell' altra, risulta evidentemente che la massa totale di sostanza cromatica dell' uovo dell' *Artemia salina* di Capodistria è maggiore di più del doppio di quella dell' uovo dell' *Artemia salina* di Cagliari. Nei nuclei poi di uno dei due primi blastomeri (fig. 41) in una profase di una piastra equatoriale, i cromosomi appaiono di nuovo in numero di 84 e sempre ancora a forma caratteristica di semiluna. Come si vede chiaramente i cromosomi sono semplici e non bivalenti come vorrebbero invece le deduzioni di Brauer.

Infine anche nelle cinesi somatiche specialmente di epitelio intestinale di embrioni, Fries ed io (secondo preliminari osservazioni) osserviamo 84 cromosomi. Si può quindi con tutta sicurezza conchiudere che il numero normale dei cromosomi delle cellule germinative e delle cellule somatiche dell' *Artemia partenogenetica* di Capodistria e di Odessa è 84 e che questo numero è fisso e caratteristico per la specie.

Grandezza e numero delle cellule somatiche nell' Artemia salina di Cagliari e nell' Artemia salina di Capodistria.

Un' analisi superficiale sulle cellule dell' intestino medio, persuade immediatamente che nell' *Artemia* di Capodistria le cellule sono molto più grandi e viceversa in molto minor numero che non nell' *Artemia* di Cagliari. Parimente anche nelle sezioni di embrioni delle due Artemie all' incirca allo stesso stadio di sviluppo, la differenza di grandezza delle cellule dell' epitelio intestinale, emerge a prima vista.

Pare però che tale differenza nella grandezza e nel numero delle cellule somatiche non sia eguale per tutti i tessuti. Così per esempio le branchie, e forse qualche altro organo di origine ectodermica, paiono costituiti di cellule di dimensioni non molto disuguali nelle due Artemie.

Riserbandomi di fare estese ricerche comparate su tale argomento, per ora mi limito a conchiudere che le due Artemie provenienti da uova di grandezza uguale (fig. 42, 43) ma contenenti una così diversa quantità di sostanza cromatica hanno parecchi tessuti costituiti di cellule di grandezza notevolmente diversa.

Conclusioni generali.

Conchiudendo anche in base a deduzioni contenute in altri lavori, risulta:

1° Le cellule germinative dell' *Artemia salina* partenogenetica di Capodistria contengono esattamente il doppio del numero dei cromosomi delle cellule germinative dell' *Artemia salina* sessuata di Cagliari.

2° L'evoluzione delle cellule germinative di queste due Artemie è durante il periodo di maturazione completamente divergente, perchè la sostanza cromatica in esse contenuta è per origine e quindi per qualità sostanzialmente differente.

3° Le Artemie saline delle varie località si riproducono:

a) esclusivamente per partenogenesi (Capodistria, Mollakary, Marsiglia, Margherita di Savoia ect.).

b) per atto fecondativo (Cagliari, lago salato di Utah [America]).

c) probabilmente sia per partenogenesi sia per atto fecondativo (Odessa, Lymington (?)).

4° Il modo diverso di riprodursi delle Artemie saline delle varie località ripete la propria origine da cause interne esistenti nell' uovo e non già dalle diverse condizioni di ambiente (3 e 22).

5° Senza escludere che possano esistere altre Artemie saline a numero diverso di cromosomi (18 e 5) i dati citologici rigorosamente sta-

biliti per le Artemie di Cagliari, di Capodistria e di Odessa, permettono di suddividere quest' unica specie morfologica, in due altre specie citologicamente e biologicamente ben definite, e cioè in una specie univalens sessuata (Cagliari) e in un' altra bivalens partenogenetica (Capodistria e Odessa).

6° Queste due specie di *Artemia salina* univalens e bivalens sono tanto più legittimamente separabili in quanto che esse differiscono anche per la grandezza e il numero delle cellule somatiche di parecchi tessuti.

Opere Citate.

1. Artom, C. Ricerche sperimentali sul modo di riprodursi dell' Artemia salina Linn. di Cagliari. Biologisches Centralblatt. Bd. XXVI. Nr. 1. 1906.
2. —— La maturazione, la fecondazione e i primi stadii di sviluppo dell' uovo dell' Artemia salina Linn. di Cagliari. Biologica. Vol. I. Nr. 24. Torino. C. Clausen. 1908.
3. —— La sistematica del genere Artemia in relazione col numero dei cromosomi ect. Biologisches Centralblatt. Bd. XXXI. Nr. 4. 1911.
4. Baltzer, Fr. Über mehrpolige Mitosen bei Seeigeleiern. Würzburg. Curt Kabitzsch (H. Stubers Verlag). 1908.
5. Brauer, Aug. Zur Kenntnis der Reifung des parthenogenetisch sich entwickelnden Eies von Artemia salina. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XLIII. 1893.
6. Fries, W. Die Entwicklung der Chromosomen im Ei von Branchipus Grub. und der parth. Generat. von Artemia salina. Archiv für Zellforschung. Bd. IV. Hft. 1. 1909.
7. Gates, R. R. The Stature and Chromosomes of Oenothera gigas De Vries. Archiv f. Zellforschung. Bd. III. Hft. 4.
8. Heidenhain, M. Plasma und Zelle. Jena, Fischer, 1907.
9. Kostanecki, K. Cytolog. Studien an parthenog. sich entwick. Eiern von Mactra. Archiv f. mikroskop. Anat. Bd. LXIV. 1904.
10. —— Über die Herkunft der Teilungscentren der ersten Furchungsspindel im befruchteten Ei. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXVIII. 1906.
11. Kühn, A. Die Entwickl. der Keimzellen in den parthenog. Generat. der Cladoceren. Archiv f. Zellforschung. Bd. I. Hft. 4. 1908.
12. Lams, H. Recherches sur l'œuf d'Arion Empiricorum (Fér). Mémoires de la Classe des Sciences de l'Académie royale de Belgique. II. Série. T. II. 1910.
13. Lérat, P. Les phénomènes de maturation dans l'ovogénèse et la spermatogénèse du Cyclops strenuus. La Cellule. T. XXII. 1905.
14. Loeb, J. Die chemische Entwicklungserregung des tierischen Eies. Berlin, J. Springer. 1909.
15. Meves, F. Spermatocytenteilungen bei der Honigbiene. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXX. 1907.
16. Nekrassoff, H. Analyse der Reifungs- und Befruchtungsprozesse des Eies von Cymbulia Peronii. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXIII. 1909.

17. Petrunkewitsch, H. Die Reifung der parthenog. Eier von Artemia salina. Anat. Anz. Bd. XXI. 1902.
18. Rath, O. v. Über die Konstanz der Chromosomenzahl bei Tieren. Biolog. Centralblatt. Bd. XIV. Nr. 13. 1894.
19. Retzius, G. Über den Bau des Eies der Echinodermen in unbefrucht. und befrucht. Zustand. Biolog. Untersuch. Neue Folge. Bd. XV. Nr. 1. Stockholm 1910.
20. Rückert, J. Zur Befruchtung von Cyclops strenuus. Anat. Anz. Bd. X. Nr. 21. 1895.
21. Schleip, W. Die Reifung des Eies von Rhodites rosae und einige allgem. Bemerkungen über die Chromos. bei parthen. Fortpflanzung. Zool. Anz. Bd. XXXV. Nr. 7. 1909.
22. Siebold, C. v. Über die in München gezüchtete Artemia fertilis aus dem großen Salzsee von Utah. Verhandl. d. 59. Jahresversamml. der schweiz. naturf. Gesellschaft in Basel 1876. Basel, Schultze. 1877.
23. Vejdowsky, F. Neue Untersuchungen über die Reifung und Befruchtung. Königl. Böhmische Gesellschaft der Wissenschaft. in Prag. 1907.
24. Winkler, H. Parthenogenesis und Apogamie im Pflanzenreiche. Jena, Fischer. 1908.
25. Yatsu, N. Centrosome in Enucleated Egg-Fragments. The Journal of experim. Zoology. Vol. II. Nr. 2. 1905.

Spiegazioni generali sulle figure.

Tutte le figure furono disegnate sul tavolo colla camera lucida Abbe.
Lunghezza del tubo del microscopio 160 mm.
Venne sempre usato Zeiss apocrom. immers. omog. 3 mm. Apert. 1,40.

Tavola XXV.

Le fig. 14, 15, 16, 17 furono disegnate con l'oculare 8: ingrandimento circa 1100 diametri.

Tutte le altre figure furono disegnate con l'oculare 18: ingrandimento circa 2400 diametri.

N.B. Tutte le figure si riferiscono all'uovo dell'*Artemia salina* di Cagliari.

Fig. 1. Oocito di prim' ordine. Le 21 tetradi sono disposte in una piastra equatoriale.

Fig. 2. Oocito di prim'ordine. Le tetradi sono disposte nel 1° fuso di maturazione.

Fig. 3. Oocito di prim' ordine a numero non ridotto di cromosomi. Le 42 diadi sono disposte in una piastra equatoriale.

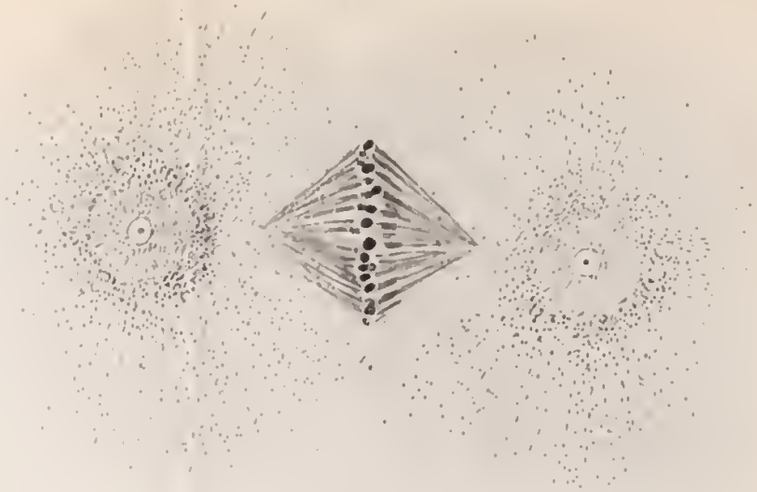
Fig. 4, 5, 6, 7. Diversi stadii di anafase della 1ª mitosi di maturazione.

Fig. 8. Il 1° globulo polare.

Fig. 9. Le diadi sono disposte nel 2° fuso di maturazione: fuori il 1° globulo polare.

Fig. 10. Anafase della 2ª mitosi di maturazione.

22

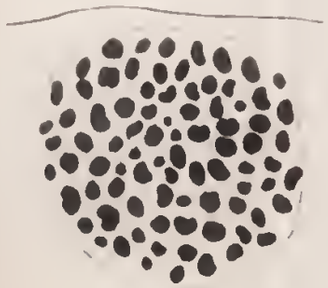


23

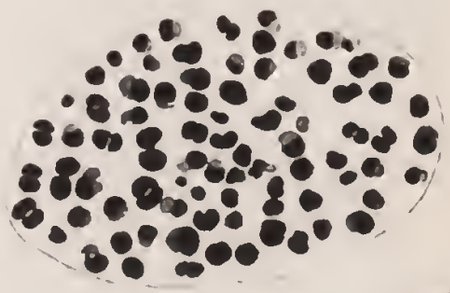
24

25

26



27

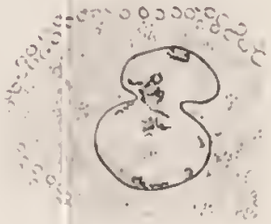


28

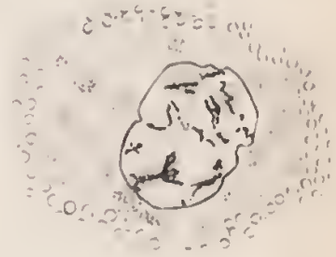
29

30

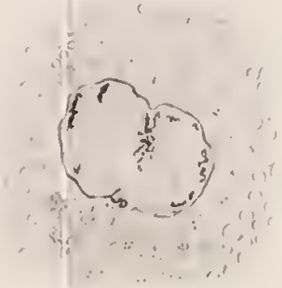
34



35

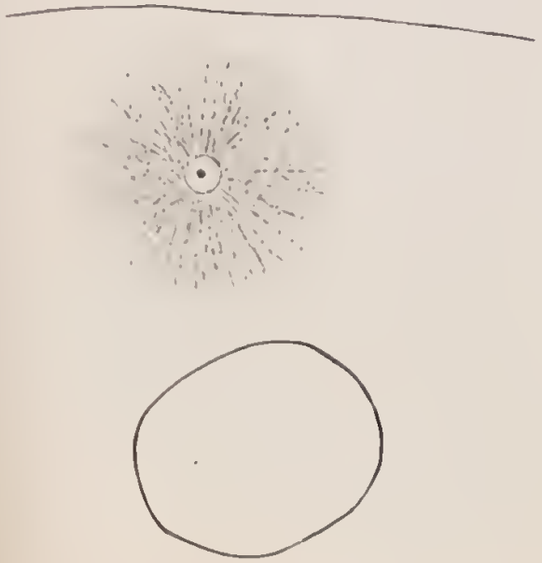


36



37

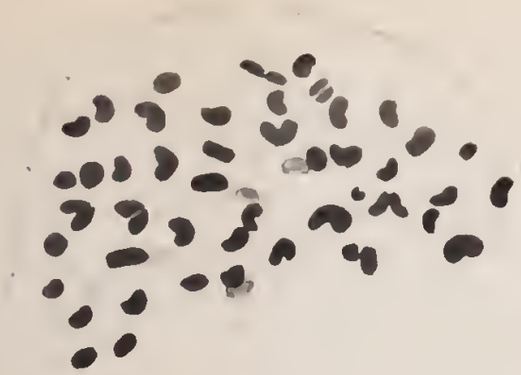
31



32

33

38a

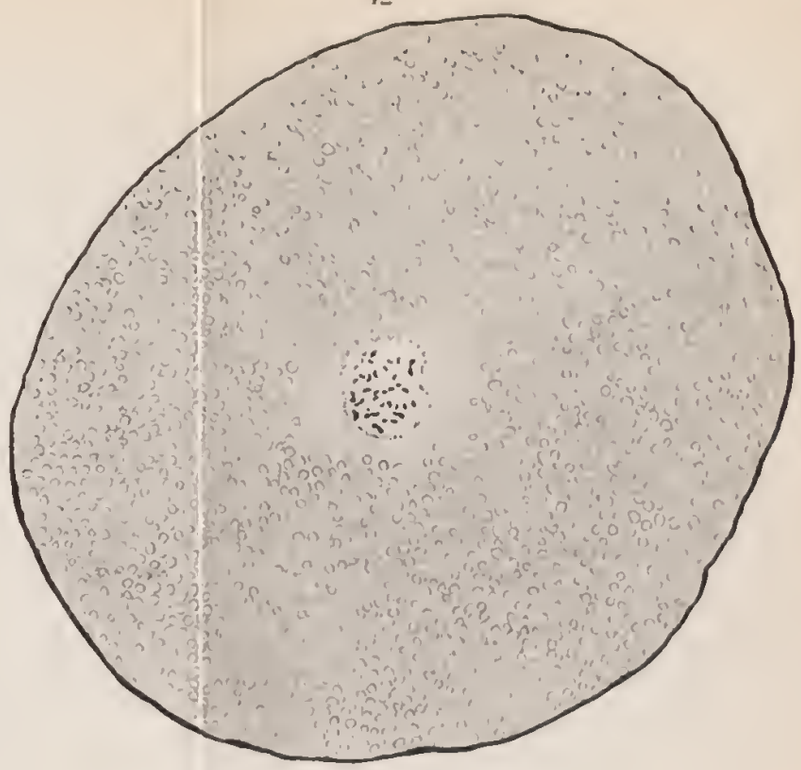


38b

39a

39b

42



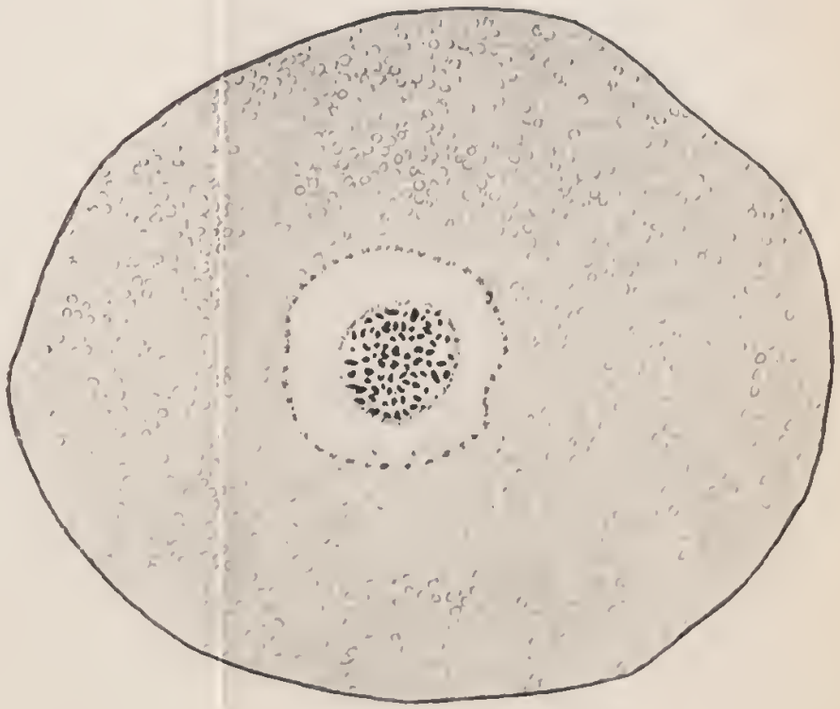
40

41a

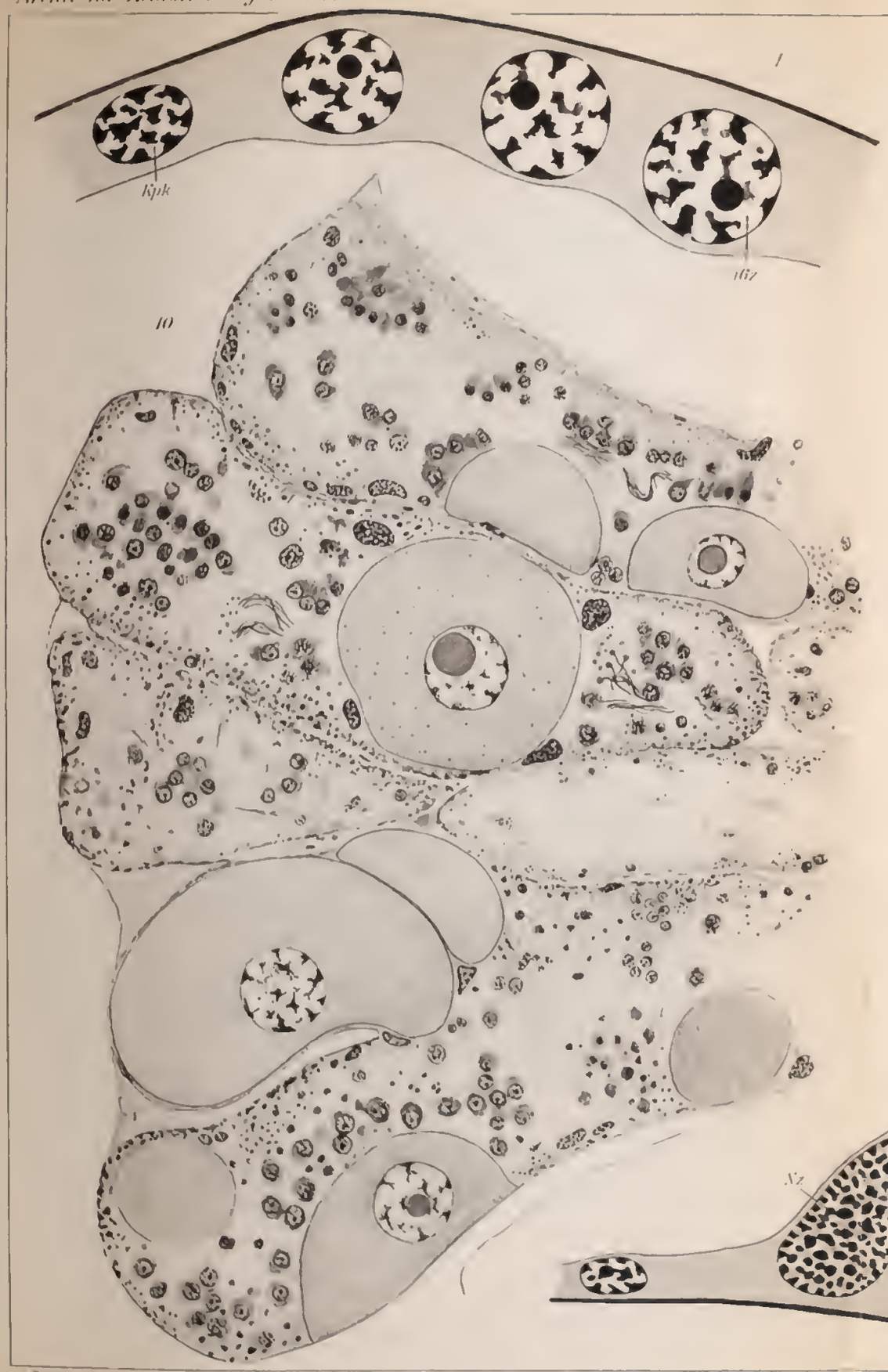
41b

41c

43



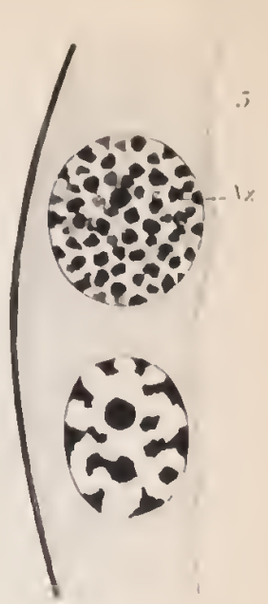
Werner & Winter, Frankfurt a/M.


1
Kpk
1Gz
10

4
Kpk

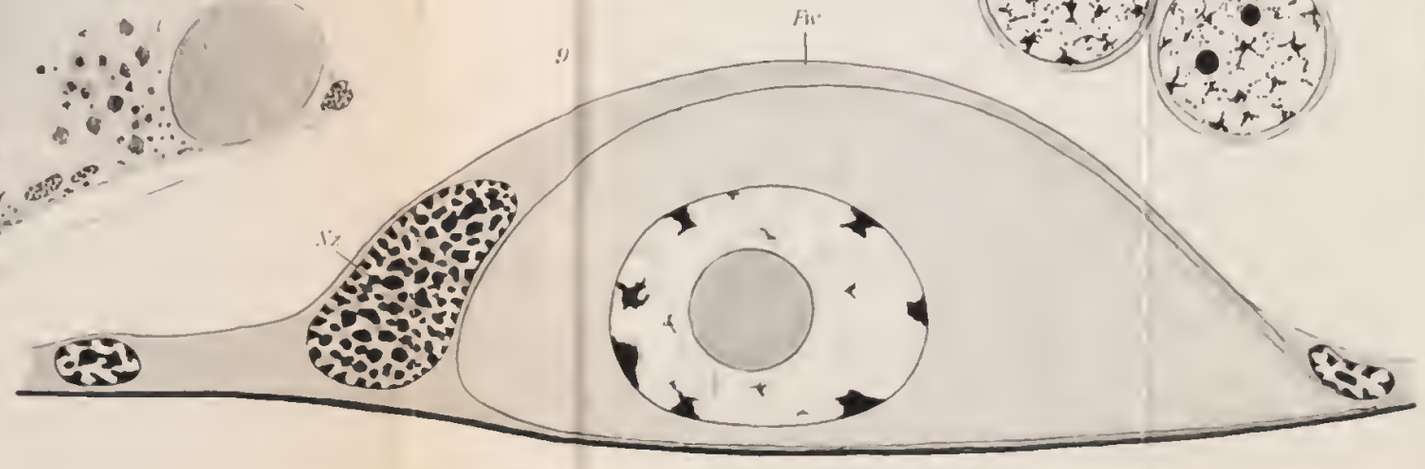
7
Nz

6
Nz
1Gz


5
Nz

3

2


Fw
9
Nz

8
Fw
1

Fig. 11, 12, 13. Formazione ed emissione del 2° globulo polare.

Fig. 14. Pronucleo maschile con centriolo e aster spermatico.

Fig. 15, 16, 17. Varii stadii della fecondazione.

Fig. 18, 19, 20. I 42 cromosomi (21 per ciascun pronucleo) disposti secondo la piastra equatoriale del 1° fuso di segmentazione.

Fig. 21. Anafase avanzata del 1° fuso di segmentazione.

Tavola XXVI.

Le fig. 34, 35, 36, 37 furono disegnate con l'oculare 4. Ingrandimento circa 550 diametri.

Le fig. 22, 31, 32, 33 furono disegnate con l'oculare 8. Ingrandimento circa 1100 diametri.

Tutte le altre figure furono disegnate con l'oculare 18. Ingrandimento circa 2400 diametri.

N.B. Le figure 22, 23, 24, 25 si riferiscono all'uovo dell'*Artemia salina* di Cagliari. Tutte le altre si riferiscono all'uovo dell'*Artemia salina* di Capodistria.

Fig. 22. Il 1° fuso di segmentazione.

Fig. 23, 24. Stadii di poliaster.

Fig. 25. Un nucleo di uno dei due primi blastomeri con 42 cromosomi disposti in piastra equatoriale.

Fig. 26. 27. Oocito di 1° ordine. Le 84 diadi sono disposte in una piastra equatoriale.

Fig. 28, 29, 30. Varii stadii di mitosi del 1° fuso di maturazione.

Fig. 31, 32. Emigrazione del pronucleo femminile e del centriolo ovarico colla astrosfera verso il centro dell'uovo.

Fig. 33. Profase del 1° fuso di segmentazione.

Fig. 34, 35, 36, 37. Sezioni di nuclei vescicolosi.

Tavola XXVII.

Le figure 42 e 43 furono disegnate con l'oculare 4. Ingrandimento circa 550 diametri.

Tutte le altre figure furono disegnate con l'oculare 18. Ingrandimento circa 2400 diametri.

N.B. La figura 42 si riferisce all'uovo dell'*Artemia salina* di Cagliari. Tutte le altre figure si riferiscono all'uovo dell'*Artemia salina* di Capodistria.

Fig. 38 (*a*, *b*), fig. 39 (*a*, *b*), fig. 40. Gli 84 cromosomi nella piastra equatoriale del 1° fuso di segmentazione.

Fig. 41 (*a*, *b*, *c*). Un nucleo di uno dei due primi blastomeri con 84 cromosomi.

Fig. 42. Sezione attraverso il piano equatoriale del 1° fuso di segmentazione dell'uovo dell'*Artemia salina* di Cagliari.

Fig. 43. Sezione attraverso il piano equatoriale del 1° fuso di segmentazione dell'uovo dell'*Artemia salina* di Capodistria.

Referate.

Bialkowska, W. und Kulikowska, L. Über den Golgi-Kopschschen Apparat der Nervenzellen bei den Hirudineen und *Lumbricus*. In: Anat. Anz. Bd. XXXVIII. 1911. S. 193—207.

Die großen *Hirudo*-Nervenzellen bestehen aus folgenden Schichten: a) Zu äußerst die äußere chromatische Schicht, die eindringende Gliafasern und das äußere Neurofibrillengitter enthält, b) eine alveoläre Schicht mit dem äußeren Golgi-Kopsch-Apparat, c) die innere chromatische Schicht mit innerem Fibrillengitter, d) die perinucleäre feinwabige Schicht mit innerem Apparat. Bei den kleinen Zellen liegt äußeres und inneres Fibrillengitter außen in einer chromatischen Schicht; innen die perinucleäre Apparatzone. Golgi-Apparat und Fibrillengitter sind also stets räumlich getrennt und stehen in keinen gegenseitigen Beziehungen. Die Neuroglia kann bis zur Apparatschicht reichen und in sie eindringen. Mit diesem ist sie jedoch nicht im Sinne von Holmgrens Trophospongienlehre zu identifizieren, da beide Bestandteile sich färberisch verschieden voneinander verhalten.

Erhard (München).

Diltevsen, Chr. Über Kernknospung im verhornten Plattenepithel beim Meerschweinchen. In: Anat. Anz. Bd. XXXVIII. 1911. S. 208—217.

Im verhornten Plattenepithel von Haut, Zunge und Ösophagus des Meerschweinchens fanden sich, und zwar nach den verschiedensten Fixierungen, stets Kernknospungen. Der abgeschnürte Teil ist im wesentlichen achromatisch. Der Vorgang kommt häufig vor, »hat wahrscheinlich keine große Bedeutung« und findet sich unabhängig von gleichfalls konstatierten amitotischen Teilungen.

Erhard (München).

Mollier, S. Die Blutbildung in der embryonalen Leber des Menschen und der Säugetiere. In: Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXIV. 1909. S. 474—524.

Aus dieser, eine Fülle interessanter, dem Gebiete der Histologie im engeren Sinne angehöriger Befunde enthaltenden Arbeit seien hier nur folgende vom allgemein biologischen Standpunkt bedeutsame Ergebnisse erwähnt: In der embryonalen Säugetierleber werden bald nach ihrer Anlage aus indifferentem Material Blutzellen gebildet.

Die Hämogonie zeigt bei der Teilung eine auffallend plumpe Form der Chromosomen. Die den Übergang von den Hämoblasten zu den Erythroblasten bildenden Zellen zeigen häufig vom Kern sich abschnürende Teilstücke oder eine Art Amitose »in zwei gleichgroße Stücke, die manchmal noch durch eine schmale Brücke zusammenhängen.« Erstere Art führt nach Ansicht des Verf. sicher nie zur Zellteilung, »sondern die Kernfragmente werden von Reticulumzellen phagocytiert«, in letzterem Falle ist die Möglichkeit einer Zellteilung nicht ausgeschlossen.

Erhard (München).

Wassermann, Fr. Über den makro- und mikrochemischen Eisennachweis im Dotter des Hühnereies. In: Anat. Hefte. Hft. 127. Bd. XLII. 1910. S. 281—310.

Alle Elemente des weißen wie des gelben Dotters enthalten Eisen. Die bekannte Schichtung des Hühnerdotters wird nicht durch abwechselnde Lagen von weißem und gelbem Dotter erzeugt, sondern der Dotter ist einheitlich gelb, nur wechseln in ihm Lagen von kleinen, heller erscheinenden gelben Elementen, mit großen, dunkel erscheinenden ebensolchen ab. Das bekannte Allen Thomsonsche Schema, das abwechselnd Lagen von gelbem und weißem Dotter zeigt, ist also falsch.

Erhard (München).

Maximow, A. Untersuchungen über Blut und Bindegewebe. III. Die embryonale Histogenese des Knochenmarks der Säugetiere. In: Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXVI. 1910. S. 1—131.

Folgende allgemein biologisch bedeutsame Ergebnisse seien hier aus der besonders für die Histologie im engeren Sinne wichtigen Arbeit hervorgehoben: Aus indifferenten embryonalen Bindegewebszellen des Säugetierknochenmarks entstehen als Wanderzellen die Lymphocyten. Diese bilden den einheitlichen Ausgang für die sich aus ihnen nach verschiedenen Richtungen hin differenzierenden übrigen Blutzellen, wie Megakaryocyten, Granulocyten, Erythroblasten. Damit ist die vom Verf. und seiner Schule bereits früher für die übrigen Wirbeltiere bewiesene monophyletische Hämatopoese auch für die Säugetiere gültig geworden.

Erhard (München).

Boveri, Th. Die Potenzen der *Ascaris*-Blastomeren bei abgeänderter Furchung. (In: Festschrift für R. Hertwig. Bd. III. S. 131—214. G. Fischer, Jena.) 1910.

Bekanntlich sind die Blastomeren bei *Ascaris* vom ersten Teilungsschritt an ungleichwertig; äußerlich unterscheiden sie sich durch Größe, Dottergehalt, durch die Richtung der Furchungsebenen, durch die Dualität der Chromosome, indem die »Urchromosome« in somatischen Zellen zu somatischen Chromosomen diminuiert werden, endlich durch ihre Descendenten. Die Nachkommen der »dorsalen« primären Blastomere *AB* (Dorsalfamilie) liefern nur Ectodermzellen; aus der andern primären Blasto-

mere P_1 entstehen neben den übrigen somatischen Komplexen die Zellen der Keimbahn. — Das Studium der Furchung dispermer und centrifugierter Eier lieferte dem Verf. Material zu einem apagogischen, lückenlosen Beweis, daß nicht das Chromatin, sondern das Plasma die Wertigkeit der Blastomeren determiniert.

Alle dispermen Eier zerfallen simultan in vier primäre Blastomeren; diese haben sämtlich die Wertigkeit normaler $^1/_2$-Blastomeren, d. h. entweder AB oder P_1. Nur das Verhältnis $P_1 : AB$ schwankt zwischen den Werten 1 : 3, 2 : 2, 3 : 1; so daß sich also bei fortgeschrittener Furchung drei Typen unterscheiden lassen: Keime mit einer Keimbahn und drei Dorsalfamilien, Keime mit zwei Keimbahnen und zwei Dorsalfamilien (Doppelfurchung), endlich solche mit drei Keimbahnen und einer Dorsalfamilie. — Eine noch radikalere Verschiebung der zwei Potenzen tritt bei Eiern auf, die vor und während der ersten Teilung zufällig so centrifugiert wurden, daß die Centrifugalkraft genau in der Richtung der Eiachse wirkte, welche selbst durch die Anhäufung des Dotters am vegetativen Pol bestimmt ist (Balleier). Alle in andrer Richtung centrifugierten Eier entwickeln sich normal. Bei den Balleiern dagegen, die infolge des Druckes gegen die Unterlage in der Richtung der Eiachse abgeplattet wurden, stellt sich die Spindel senkrecht zur Eiachse, d. h. senkrecht zur Spindelrichtung im normalen Ei. Die Untersuchung ganzer Balleier und solcher, deren eine $^1/_2$-Blastomere durch ultraviolettes Licht getötet wurde, ergab, daß beide primären Blastomeren die Potenz P_1 besitzen. Ohne daß also das geringste vom Ei weggenommen wurde — denn der »Ball«, ein granulareiches abgeschnürtes Plasmakügelchen am animalen Pol, kann fehlen — geht die Potenz AB völlig verloren. Demnach besitzt das befruchtete Ei eine außerordentliche Regulationsfähigkeit. Bei der Doppelfurchung der dispermen Eier (Typus II) entstehen sozusagen aus halben Eiern ganze Embryonen, das ganze Ballei dagegen liefert halbe Keime.

Will man annehmen, die verschiedene Wertigkeit der Blastomeren werde von den Chromosomen induziert, so muß man eine differentielle Chromosomenteilung in somatische und Urchromosome annehmen. Bei der ersten Teilung müßte jedes Chromosom in ein Urchromosom und ein somatisches sich spalten; das somatische geriete in die Zelle AB, würde dort diminuiert und teilte sich fortan gleichwertig; das Urchromosom käme in die Zelle P_1, spaltete dort in der zweiten Teilung in ein Urchromosom, das in P_2, und in ein somatisches, das in die somatische Schwesterzelle von P_2 geriete, dort diminuiert würde, sich weiterhin gleichwertig teilte und so fort. Von jedem einzelnen primären Chromosom ließe sich also ein Stammbaum herleiten, der das Furchungsschema der Zellen genau wiederholte, wenn man für Urchromosom Keimbahnzelle, für somatisches Chromosom somatische Zelle einsetzte. — Da bis zum vierten Teilungsschritt auf jedem Stadium nur eine Keimbahnzelle vorhanden ist und jedes Chromosom seinen Stammbaum hat, bliebe auf diesen Stadien die Summe der Urchromosome sämtlicher Zellen der Zahl der Chromosome des befruchteten Eies gleich. Die Chromosomenzahl des dispermen Eies von *Asc. bivalens* ist 6, von *univ.* 3. — Tatsächlich schwankt in den untersuchten Stadien die Urchromosomenzahl je nach der Zahl der Keimbahnen zwischen 2 und 12, beziehentlich 1 und 6.

Auch Zur Strassens Theorie, nach welcher das heteropole Plasma auf die ungleichwertigen Spalthälften der Chromosome in der Äquatorialplatte richtende Kräfte wirken läßt, so daß die »AB-Chromosome« nach der einen, die »P_1-Chromosome« nach der andern Seite zu liegen kommen, um dann ihrerseits das Plasma, in das sie infolge seiner richtenden Kräfte gerieten, zur Zelle P_1 oder AB zu determinieren, ist unhaltbar. Denn bei den Balleiern wie bei denjenigen dispermen Eiern, deren vier Simultanblasto-

meren eine tetraedrische Figur bilden, in dem Sinne, daß drei Centren auf der gleichen Ebene senkrecht zur Eiachse liegen, finden sich die beiden Seiten der Äquatorialplatte — vorausgesetzt, daß Boveris auf indirektem Wege gewonnene Annahme einer Heteropolie des Plasmas in der Richtung der Eiachse (für parallele Schiehtung am leichtesten vorstellbar) richtig ist — völlig gleichen Plasmen gegenüber. Die Einstellung der AB- und P_1-Spalthälften der Chromosome bleibt also in solehen Fällen dem Zufall überlassen. Wenn nun doch die beiden Blastomeren des Balleies die Potenz P_1, oder von den drei plasmatisch gleichwertigen Blastomeren der tetraedrisehen dispermen Keime einmal eine, einmal zwei, einmal drei Blastomeren die Potenz P_1 erhalten sollen, so sind für jeden einzelnen Fall besondere Hilfsannahmen über ein Prävalieren der P_1-Chromosome gegenüber den AB-Chromosomen notwendig. Diese Hilfsannahmen widersprechen sich aber untereinander. — Demnach gibt es weder im üblichen noch in Zur Strassens Sinne eine differentielle Chromosomenteilung.

Die Spalthälften der Chromosome sind gleichwertig, das Plasma veranlaßt durch seine Verschiedenheit die Chromosome, die Diminution vorzunehmen oder zu unterlassen. Freilich ist nicht anzunehmen, daß dieses untersehiedliche Verhalten des Chromatins ein zweckloser Nebeneffekt der primären plasmatisehen Verschiedenheiten wäre. Das vom Plasma differenzierte Chromatin wird sicherlich in Weismanns und Roux' Sinne rückwärts das Plasma beeinflussen, so daß die gewaltigen Verschiedenheiten der entstehenden Zellen sieh dureh eine innige Weehselwirkung von Kern und Protoplasma erklären.

Ob die primäre Polarität des Plasmas auf einer Sehiehtung in der Richtung der Eiachse oder auf der Anwesenheit bestimmter Substanzen am animalen oder am vegetativen Pol beruht, bleibt unentsehieden. Vielleicht bringt eine genaue Analyse der von Zur Strassen beschriebenen Rieseneier die Entscheidung. — Da jede der vier Simultanblastomeren bei dispermen Eiern $^1/_2$-Wertigkeit gewinnt, ist eine »Halb«-struktur im befruchteten Ei undenkbar. Die Dreifachzwillinge (ein monospermes Riesenei, zusammengeflossen aus zwei Oocyten, mit einem monospermen Einfachei verschmolzen) lehren, daß in der Oocyte eine Polarität noch nicht besteht. Während das befruchtete Ei noch eine sehr große Regulationsfähigkeit besitzt (siehe oben), herrscht bereits auf dem 2-Blastomerenstadium strengstes Mosaik; nie hat eine primäre Blastomere andere Potenz als P_1 oder AB. All das führt zu der Vorstellung von einer determinierenden Wirkung des Teilungsschritts. Die Vorgänge sind nicht so zu erklären, daß das Plasma mit fortsehreitender Entwieklung »starrer« werde (Driesch, *Cerebratulus*); das Plasma gewinnt keine Intimstruktur, die sieh auf den nächsten Teilungsschritt bezieht. Wie das befruchtete Ei der *Ascaris* die Regulationsfähigkeit mit der ersten Teilung verliert, so würden auch Fragmente der primären Blastomeren, wenn man sie herstellen könnte, regulationsfähig sein, d. h. wiederum exakt die Potenz AB oder P_1 besitzen. Jede Zelle ist so konstruiert, daß ein Fragment die Struktur der Mutterzelle, also auch des ganzen Eies wiederholt, wie dies für die parallele Schiehtung sich am leichtesten vorstellen läßt. Eine Regulation der isolierten ganzen Blastomere ist ausgeschlossen; denn sie haben durch irgendetwas, was an den Teilungsschritt gebunden ist, etwa durch die Richtung der Absehnürung, eine eigene Polarität gewonnen. Diese Polarität drückt widerum noch nicht die Qualitäten der zu bildenden Tochterzellen aus; deren Differenzierung entsteht wie zuvor de novo als Wirkung der Teilungsrichtung. »Die Zellstruktur stellt kein Mosaik dar; dieses wird erst gebildet vom Komplex der selbständig gewordenen Zellen.«

Koehler (München).

Nemec, B. Das Problem der Befruchtungsvorgänge und andere cytologische Fragen. 532 S. Mit 119 Abbildungen im Text und 5 lithogr. Tafeln. Berlin. Verlag von Gebr. Borntträger, 1910.

Das neu erschienene schöne Buch von Nemec enthält eine Zusammenstellung der Erfahrungen des Verf. über mehrkernige Zellen mit genauer Berücksichtigung der Analogien und Berührungspunkte mit den Befruchtungsprozessen. Gleich in der Einleitung führt uns der Verf. in dieses für die Biologie sehr wichtige Gebiet ein. Aus seinen früheren Arbeiten, sowie aus den Publikationen von Strasburger u. a. ist bekannt, daß in bestimmten Bedingungen die vegetativen Zellen und auch ihre Kerne miteinander verschmelzen. Die Kerne solcher Gebilde werden Synkaryonten genannt. Die nähere Analyse dieser Elemente, ihr weiteres Verhalten in der Ruhe- und Vermehrungsperiode bieten sehr interessante Punkte sowohl hinsichtlich der Chromosomenverhältnisse, als auch in bezug auf das Problem der Kernplasmarelation. Bei der Besprechung des gegenseitigen Verhältnisses zwischen dem Kern und Protoplasma wird auch die Frage der sog. Mitochondrien berührt.

Die Verschmelzung der Kerne kann durch die Einwirkung des Chloralhydrats künstlich hervorgerufen werden. Die Beobachtungen von Nemec beziehen sich auf *Lilium candidum* und *Pisum sativum*; er hat dabei jedoch festgestellt, daß die Kerne der Zellen mancher Zonen der Wurzelspitze auf die Wirkung der Chloralhydratlösung nicht reagieren. Daraus ist zu ersehen, daß die Kernverschmelzung vom physiologischen Zustande der Zelle abhängig ist. Der Verf. beschreibt sodann den Verlauf der Karyokinese solcher Synkaryonte. Bei vielen Synkaryonten unterscheidet er sich kaum von dem Verlauf der Mitose der einwertigen Kerne. Die Substanz der verschmolzenen Kerne mußte sich gründlich durchdrungen haben, denn bei der Mitose war eine einheitliche Kernplatte zu sehen. Die Zahl der Chromosomen war eine solche, die den Erwartungen der Individualitätshypothese entsprach, also z. B. bei syndiploiden Kernen 48.

Bei dem zweiten Typus der Mitose hat Nemec die Bilder beobachtet, welche er als »direkte Reduktion« bezeichnet. Die Chromosomenanzahl bei syndiploiden Kernen betrug hier nicht mehr als 24, das ist also der Teilungsfigur gleich, welche einfach diploide Chromosomenanzahl hat. Diese Reduktion geschah direkt dadurch, »daß sich im Kern die Chromosomen statt in einer doppelten in einer einfachen Anzahl entwickelten.«

Die Vermutung von Strasburger, daß kleine Kerne einer Resorption anheimfallen, oder auf anderm Wege aus der Zelle fortgeschafft werden, hält Nemec für sein Material nicht für stichhaltig. Auch die Präparate aus den mehrmals chloralisierten Objekten haben keine neue bedeutsame Anhaltspunkte für diese Probleme ergeben.

Der Verf. beschreibt weiter seine Beobachtungen an *Pisum sativum*, *Vicia faba*, *Lupinus albus*, *Dolichos multiflorus*, *Vigna Catjoung* u. a. Er hat bei diesen Studien auch die Methode der mehrmaligen Chloralisierung der wachsenden Wurzelspitzen angewandt. Diese Beobachtungen haben die früher beschriebenen Resultate, welche an *Lilium candidum* gewonnen wurden, vollauf bestätigt. Die mehrwertigen Kerne, welche aus der Verschmelzung einzelner Kerne entstehen, können entweder normale Verhältnisse bei der Teilung erweisen, oder es zeigt sich dabei die direkte, in manchen Fällen auch die indirekte Reduktion. Unter dem Namen der indirekten Reduktion versteht Nemec den Prozeß, bei welchem die reduzierte Chromosomenanzahl »durch Kopulation von je zwei Chromosomen zustande

kommt.« Dabei hebt Nemec ausdrücklich hervor, daß die Reduktion nur fakultativ auftritt. Die meisten unzweifelhaften Figuren werden im Urmeristem getroffen. Gelegentlich wurden auch gewisse Abnormitäten vom Verf. beobachtet, und zwar unvollständige Trennung der Schwesterchromosomen, schräge Stellung der Teilungswand, was manchmal eine unregelmäßige Verteilung der Chromosomen zur Folge hat, die Umwandlung der Chromosomen in Karyomeriten, welche oft längere Zeit nicht miteinander verschmelzen, so daß die Rekonstruktion des Tochterkerns eine Verspätung erfährt.

Wenn Wurzeln mehrmals hintereinander in etwa 24 Stunden langen Intervallen chloralisiert werden, so bekommt man im Pericambium eine Zone mit syndiploiden Zellen. Diese Eigenschaft der Kernverschmelzung vererbt sich auch in weiteren Zellgenerationen und so konnte Němec auch im Gewebe zahlreicher Seitenwurzeln viele syndiploide Zellen feststellen. Es ist beachtenswert, daß in vielen Fällen die syndiploiden Elemente aus dem Zellverband ausgeschieden werden und oft sodann einer Degeneration anheimfallen. Infolgedessen nimmt auch die Zahl der syndiploiden Zellen mit dem Längerwerden der Wurzeln ab. Was die Reduktion betrifft, so gibt der Verf. an, daß eigentlich keine Kernteilungsfigur getroffen wurde, »welche sicher als eine Reduktionsfigur zu deuten wäre«; jedoch auf Grund der Erwägung des Verhaltens des ganzen in Rede stehenden Gewebes kommt er zu dem Schluß, daß auch hier wie im Gewebe der Wurzelspitzen die Reduktion fakultativ vorkommt.

Sehr wichtig wäre noch der positive Nachweis, daß gewisse Gruppen der syndiploiden Elemente, welche weder eliminiert wurden, noch einer Reduktion anheimgefallen sind, dauernd syndiploid bleiben. Wichtig wäre die positive Feststellung dieser Tatsache in Anbetracht der Beobachtungen von Gates über Verhalten der Zellgröße bei dem Mutant *Oenothera gigas*.

Der Verf. beschreibt ferner das Verhalten der Zellen während der Endospermbildung in bezug auf die Kernverschmelzung. Als Material wurde *Corydalis pumila*, *Secale cereale*, *Colutea arborescens*, *Euphorbia* u. a. Pflanzen verwendet. Im Endosperm dieser Pflanzen kommen stets mehrkernige Zellen vor, das weitere Schicksal jedoch ist bei verschiedenen Pflanzenarten different. Bei *Corydalis* verschmelzen ganz regelmäßig die gesamten Kerne einer mehrkernigen Zelle zu einem einzigen Synkaryon, bei *Colutea arborescens* kann die Kernverschmelzung in zahlreichen Zellen ausbleiben, bei *Secale cereale* verschmelzen nur Schwesterkerne nach dem Ausbleiben der Scheidewandbildung. Hinsichtlich der Reduktionsvorgänge bei diesen Gebilden sind nach der Angabe von Němec noch weitere Untersuchungen wünschenswert.

Der Verf. bringt weiter die Ergebnisse seiner Beobachtungen an mehrkernigen Zellen der Euphorbiaceen. Die Mehrkernigkeit ist bei diesen Zellen als Folge des Ausbleibens der Zelleibsteilung nach vollzogener Kernteilung zu betrachten. Die Beobachtung von Němec, »daß in den mehrkernigen Zellen alle Kerne immer simultan zur Karyokinese herantreten« — stimmt vollkommen damit überein, was der Referent bei der Spermatogenese von *Helix pomatia* (Über mehrfache bipolare Mitose bei der Spermatogenese von *Helix pomatia*. Anz. der Akad. der Wissen. in Krakau 1897) beschrieben und abgebildet hat. Meiner Ansicht nach ist der Schluß, »daß das Cytoplasma und der Kern in einer Wechselwirkung stehen und daß weder der Kern selbst noch das Cytoplasma allein Anstoß zur Teilung geben« — vollauf berechtigt und sehr wichtig. In den mehrkernigen Zellen sind die Kerne ganz gesetzmäßig verteilt, was ebenfalls vom Verf. näher diskutiert wird. Die Anzahl der Kerne steigt in der Regel mit der Größe der Zellen, die Kerne einer Zelle sind ungefähr gleich groß. In der

Mehrzahl solcher mehrkernigen Zellen können die Kerne sogar dicht beieinander liegen, ohne daß die Verschmelzung von ihnen stattfinde, in manchen Zellen kommt es jedoch zur Verschmelzung, an welcher gewöhnlich zwei, seltener drei Kerne teil nehmen.

Interessant sind die Versuche, welche Němec über den Einfluß der Centrifugalkraft auf die Lagerung der Kerne in mehrkernigen Elementen der Euphorbiaceen (z. B. Wurzelspitzen von *Ricinus*) angestellt hat. Er wollte hier die wichtige Frage entscheiden, ob die Lagerung der Kerne bloß durch das spezifische Gewicht derselben bedingt ist oder, ob sich der lebende Zellinhalt in dieser Hinsicht nicht ganz passiv verhält. Die Erfahrungen des Verf. sprechen mehr zugunsten der letzterwähnten Alternative.

Vielkernige Zellen werden auch in pathologischen Pflanzengeweben beobachtet, und zwar in den *Heterodera*-Gallen. Verschiedene Pflanzenarten lassen sich mit dem Nematoden *Heterodera radicicola* leicht infizieren und das Gewebe, welches unter dem Einfluß dieses Wurmes entsteht, zeichnet sich durch zahlreiche mehrkernige Riesenzellen aus. Die Beobachtungen von Němec wurden an verschiedenem Material durchgeführt (*Cierodendron fragrans*, *Coleus*, *Pulsatilla vulgaris*, *Phlomis tuberosa*, *Cissus hydrophorus*, *Laportea gigas* u. a.). Die Riesenzellen dieser Geschwülste entstehen durch aufeinanderfolgende Kernteilungen, welche durch Plasmateilung nicht begleitet werden. Die Anzahl der Kerne kann sehr beträchtlich sein, so daß mehrere Hundert Kerne in einem plasmatischen Territorium beobachtet werden. Bei gewissen Pflanzenarten (*Phlomis tuberosa*) wurde eine Kernverschmelzung in den Riesenzellen sicher festgestellt. Vor der Verschmelzung gruppieren sich die Kerne zu einem Haufen oder einer Kette und sodann verschmelzen sie zu einem einzigen Riesenkern. Bei *Washingtonia* verschmelzen im Geschwulstgewebe sogar 40—80 Kerne.

Es wurden auch gewisse Abweichungen vom normalen Verlauf beobachtet. So kann z. B. nur ein Teil der Kerne zu einem einheitlichen Riesenkern verschmelzen, während die übrigen Kerne zerstreut im Protoplasma liegen. Es werden die Differenzen in der Zellgröße und der Beschaffenheit des Kerninhalts konstatiert, besonders bezüglich der Chromatinmenge. Dann beschreibt Němec in dieser Zellenkategorie die Chromatinkörperchen im Protoplasma, welche aus dem Kern hinausgetreten sind. Sie haben jedoch mit den Mitochondrien nichts zu tun. Die Mitochondrien sind im Plasma dieser Zellen oft zu sehen, der Verf. vertritt, was ihre Genese anbelangt, die Meinung, daß sie als Eiweißkristalle des Protoplasmas zu betrachten sind. An den Riesenkernen sind oft die Degenerationserscheinungen wahrnehmbar, die sich durch starke Schrumpfung und intensive homogene Färbung auszeichnen.

Im Anschluß an die Arbeiten von Blazek, Strasburger und Grégoire bespricht der Verf. kurz das Auftreten der Karyomeren im Pflanzenreich, was sonst sehr selten ist, was aber besonders in Anbetracht des Prozesses der Kernreorganisation eine Bedeutung hat.

Alle Vorgänge der Zellteilung können durch den Einfluß der narkotischen Mittel stark modifiziert werden; und diese Erscheinungen werden von Němec in den nächsten Kapiteln seines Buches geschildert. N. hat zuerst die Wirkung des Chloroforms auf die Wurzelspitzen studiert. Nach sehr starker Chloroformierung fallen die Zellen einer Degeneration anheim, wenn jedoch die Chloroformierung in entsprechender Zeit aufgehoben wird, so treten charakteristische Veränderungen in einzelnen Zellbestandteilen auf. Sehr auffallend ist die Vacuolisierung und Verklebung der Chromosomen, so daß diese Erscheinung den Eindruck einer Rekonstruktion der Kerne aus den Chromosomen macht. Die Vacuolisation

ist sonst sowohl im Protoplasma als auch in den Kernen der chloroformierten Elemente zu sehen. Der Einfluß des Chloroforms äußert sich auch in der Sistierung der Zellteilung.

Němec hat ferner bei seinen Chloroformierungsversuchen die pollenbildenden Elemente von *Larix decidua* untersucht. Er hat dabei entweder nur einmal oder mehrmals in verschiedenen Zeitintervallen sein Versuchsmaterial chloroformiert. Bei diesen Experimenten hat er bei schwächerer Chloroformierung eine vorübergehende Einstellung der vorhandenen Teilungen bemerkt, bei etwas stärkerer Chloroformierung wurde die Zellteilung länger verhindert. Es entstehen dabei die mehrkernigen Zellen und in gewissen Fällen kann es auch zur Verschmelzung der Kerne im einheitlichen plasmatischen Territorium kommen. Bei der Zellteilung solcher Elemente hat Němec beobachtet, »daß Pollenkörner mit diploider Chromosomenzahl völlig den Charakter einer haploiden Generation annehmen können.« Das ist selbstverständlich nur falkultativ. Der Verf. beschreibt verschiedene Abweichungen der Teilungsvorgänge bei den chloroformierten pollenbildenden Elementen.

Auch durch mechanische Faktoren, wie Verwundung und Zerquetschung können wichtige Störungen im Verhalten der betreffenden Elemente beobachtet werden; diese Störungen haben jedoch nichts Specifisches an sich, so daß sie auch durch andere Agentien hervorgerufen werden können. Eine charakteristische Erscheinung nach der Verwundung bildet die traumotropische Bewegung der Kerne in den Zellen des Gewebes, welches durch Verwundung betroffen ist. Sodann findet das Zusammenfließen der Vacuolen im Protoplasma derselben Elemente statt. Bei der Vacuolenvergrößerung verursachen die Plasmaströmungen eine unregelmäßige Chromosomenverteilung und eventuell noch eine Degeneration der Spindelfasern. Ist die Zelle mehrkernig geworden, so kann dort auch Kernverschmelzung stattfinden. Bei den Kernteilungen wurden von Němec Figuren beobachtet, welche er als Bilder der direkten Reduktion deutet. Durch Zerquetschungen des Wurzelspitzengewebes hat der Verf. Kernübertritte von einer Zelle in die andere gesehen und dadurch können gelegentlich Kernverschmelzungen erzeugt werden. Im Anschluß daran diskutiert der Verf. die Pfropfbastardfrage und spricht in dieser Hinsicht seine Vermutung aus, daß zu einer wirklichen Vereinigung, bei welcher die die Zellen trennenden Membranen von Plasmodesmen durchdrungen sein müssen, nur ganz gesunde Zellen fähig sind. Durch Verwundungen dagegen werden die Zellen in einen krankhaften Zustand versetzt, der ein richtiges Verwachsen mit der Nachbarzelle verhindert.

Im Anschluß an die Beobachtungen am tierischen Material, an welchem bei vegetativen Elementen die Tetraden und Gemini in den Kernteilungsfiguren beobachtet wurden (Haecker, Schiller), hat sich Nemec bemüht, analoge Bilder an pflanzlichen vegetativen Geweben zu finden bzw. künstlich hervorzurufen. Ein solches Material hat er in *Ricinus zanzibariensis* gefunden; es ist jedoch von dem Verf. festgestellt worden, daß in der Metaphase die Chromosomen bei dieser Pflanzenart s c h e i n b a r verschmelzen oder verkleben.

Sehr interessant ist die Diskussion, welche Němec über die Entwicklung der Chromosomen und Rekonstruktion der Kerne durchführt. Dieses Problem steht im innigen Zusammenhang mit der Individualitätshypothese und dem Verhalten der Chromosomen im ruhenden Kern. Ich verweise, was Details betrifft, auf das Original (Kapitel XII), und möchte nur hervorheben, daß Němec eigentlich auf dem Boden der Individualitätshypothese der Chromosomen steht. Er ist, was die Persistenz der Chromosomen im Ruhestadium der Kerne betrifft, der Meinung, »daß in den Kernen, deren Teilungen

schnell aufeinander folgen, bestimmte strukturelle Verhältnisse von der letzten Telophase direkt auf die nächste Prophase übergehen. Weiter, daß dieselben während der Ruheperiode leicht einer Veränderung unterliegen, welche auf Verlagerungen jener Strukturen im Kern hinweisen.« Diese Verlagerungen müssen nach Němec besonders bei den Zellen mit langer Ruheperiode stattfinden.

Der Verf. hat auch den Einfluß der äußeren Faktoren auf die Chromosomenform untersucht; es wurden von ihm die Keimpflanzen von *Allium montanum*, die Keimwurzeln von *Vicia faba* und *Galtonia canticans* mit Benzindämpfen behandelt. Die Versuche haben positive Resultate ergeben. Die Abbildungen von Němec beweisen, daß durch diese Eingriffe die schmalen, langen Chromosomen eine plumpe, verkürzte Gestalt annehmen. Daraus lassen sich vermutliche Schlüsse auf die Veränderung der Gestalt der Chromosomen bei allotypischen Teilungen ziehen. Es ist möglich, daß die Gestalt der Chromosomen in diesen Perioden direkt oder indirekt beeinflußt und infolgedessen verändert wird. Die Veränderung der Chromosomengestalt kann auch durch plasmolytische Faktoren veranlaßt werden. Dabei kann stets starke Anschwellung der Chromosomen konstatiert werden, in den Chromosomen sind zahlreiche, oft große Vacuolen zu sehen. Němec erklärt diesen Vorgang folgendermaßen: »Durch eine genügend starke Plasmolyse, wobei die Kernteilungsvorgänge sistiert werden, wird auch meiner Meinung nach das Enzym aktiviert und führt zur Vacuolisierung, d. h. zu einer partiellen Lösung der Chromosomen.«

Sehr interessant ist das Kapitel über Ausgabe von ungelösten Körperchen aus dem Kerne. Verschiedene Literaturangaben berichten, daß durch Plasmolyse gewisse Kernbestandteile, wie Nucleolen, aus diesem Zellorgan austreten. Dieselbe Erscheinung soll auch bei der Kernteilung stattfinden. Gewisse Plastiden entstehen durch Teilung der vorhandenen, es ist aber nicht ausgeschlossen, daß sie in bestimmten Zellen oder unter bestimmten Bedingungen auch ne novo entstehen können. Daß aber bestimmte Partikelchen aus dem Kern in das Cytoplasma durch die Membran gelangen können, unterliegt auch nach den Erfahrungen von Nemec keinem Zweifel (Riesenzellen der *Heterodera*-Gallen); oft haben jedoch die im Protoplasma beobachteten Plastiden mit dem Heraustreten der Chromatinkörnchen aus dem Kerne nichts zu tun. Mit vollkommenem Recht hebt der Verf. hervor, »daß man sehr häufig geneigt ist, Substanzen, welche in der Nähe des Zellkerns oder dicht an seiner Oberfläche auftreten, als aus dem Kern ausgetretenes Chromatin (zu dieser Bezeichnung genügt schon eine Tingierbarkeit mit ein paar sog. Kernfarbstoffen) zu bezeichnen. Dabei ist aber zu beachten, daß verschiedene solche Substanzen sich eben in der unmittelbaren Nähe der Kernoberfläche entwickeln können.

Der Verf. berichtet ausführlich über seine mikrochemischen Studien über die Natur der Zellkerne und der Bestandteile der Teilungsfiguren. Am bequemsten haben sich bei diesen Untersuchungen die Löslichkeitsverhältnisse der Zell- bzw. Kernkomponenten herausgestellt. Die Untersuchungen wurden am fixierten Material durchgeführt. Die fixierten Wurzelspitzen wurden mit heißem und siedendem Wasser behandelt, als Material wurde *Vicia faba*, *Allium cepa*, *Cucurbita maxima* u. a. verwendet. Die Beobachtung der entsprechenden Präparate ergab, daß sich Kerne von verschiedener Entwicklungsstufe verschiedenartig verhalten. Die sich nicht mehr teilenden Kerne werden nur wenig angegriffen, hingegen erscheinen meristematische Kerne stark verschwommen, was als Folge einer bedeutenden Quellung des Kernreticulums zu betrachten ist. Die genaue Untersuchung des Verhaltens der Kernbestandteile bei der Quellung führt Nemec zu dem Schluß, daß eine von manchen Cytologen angenommene

Lininschicht an der Chromosomenoberfläche überhaupt nicht existiert. Es wurden von dem Verf. auch die Löslichkeitsverhältnisse der in Teilung begriffenen Kernbestandteile untersucht und die Resultate aller dieser Versuche lassen sich in folgenden Worten von Němec zusammenfassen: »Das Chromatin des ruhenden Kernes ist koagulierbar im heißen Wasser und ist unlöslich in demselben, wenn sich der Kern zur Teilung anschickt, wird das Chromatin immer schwieriger koaguliert und leichter aufgelöst, dicht vor der Metaphase erreicht es in dieser Beziehung den Höhepunkt. Jede Kernteilung ist also mit einer cyklischen Veränderung bestimmter Eigenschaften des Chromatins verbunden. Außerdem nähert sich auch das Chromatin sich teilender Kerne in seinen Eigenschaften jenem der ruhenden Kerne, wenn die Teilungsfigur in größerer Entfernung vom Vegetationspunkt liegt, also wenn die Teilung in einer Zelle vor sich geht, die dem Dauerzustande genähert ist.«

Hinsichtlich der Anschauungen von Oes über das Vorhandensein eines chromatinlösenden Enzyms kommt der Verf. nach Berücksichtigung seiner Befunde zu der Überzeugung, daß das Vorhandensein desselben bisher noch nicht streng nachgewiesen ist.

Němec hat neben den Löslichkeitsverhältnissen in heißem und kaltem Wasser auch die Einwirkung einiger chemischer Reagentien auf die Chromosomen geprüft, wie HCl, Pepsinwirkung, KOH, NaOH u. a. und beweist auf Grund dieser Forschungen, »daß sich auf mikrochemischem Wege Unterschiede zwischen den Nucleolen und Chromosomen, zwischen diesen und dem Kernreticulum, zwischen diesem und den Chromatinkörperchen, zwischen Cytoplasma und Spindelsubstanz, zwischen dem Kernreticulum und der Kernmembran, zwischen diesem und dem Cytoplasma usw. feststellen lassen.«

Im zweiten allgemeinen Teil seines Buches präzisiert Němec genauer seine Stellung zu der Hypothese der Chromosomenindividualität. Die Konstanz der Chromosomenzahl betrachtet Němec mit Recht als Grundlage der Individualitätshypothese. Es ist deshalb von Wichtigkeit, zu untersuchen, ob die Analogie der Konstanz der Plastiden mit der Konstanz der Chromosomen besteht. Aus der Schilderung der Verhältnisse bei *Anthoceros punctatus* u. a. geht hervor, »daß die Zellen mancher Pflanzen die Fähigkeit besitzen, die Plastidenzahl zu regulieren, so daß auch für dieselben eine Zahlenkonstanz gilt.« Daß in manchen Fällen durch die Reduktion eine Regulation der Chromosomenzahl stattfindet, das spricht keineswegs gegen die Individualitätshypothese. Auch die Anschauung von Strasburger über das Verschmelzen der Chromosomen nimmt Němec an. Nach der Durchführung der genauen Diskussion von wichtigsten Literaturangaben mit Berücksichtigung eigener Befunde nimmt Němec die Hypothese der Individualität der Chromosomen an, da mit derselben die meisten cytologischen Befunde sich erklären lassen. Sie muß jedoch noch immer als Hypothese gelten und in dieser Beziehung schließt sich der Verf. der vom Referenten (Roux' Vortr. u. Aufs. Hft. 9. 1909. S. 155) ausgesprochenen Ansicht an, daß die Individualitätshypothese d i r e k t bisher nicht bewiesen wurde. Dieser d i r e k t e Beweis könnte »durch unmittelbare Beobachtung einzelner Chromosomen, durch Verfolgung derselben von einer Karyokinese durch die ganze Ruheperiode bis zu der nächsten Mitose« erbracht werden. Němec weist darauf hin, daß bei den aus der Bastardierung hervorgegangenen Keimen vielleicht möglich wäre, die Chromosomen der einen Art von denjenigen der andern im Wege der mikrochemischen Reaktionen zu unterscheiden. Morphologisch ist es bekanntlich bereits gelungen (Moenkhaus, Tennent, Baltzer).

Im innigen Zusammenhang mit der Chromosomenanzahl, welche während der Kernteilung wahrnehmbar ist, bleibt nach den bisherigen Literaturangaben die Kern-

größe in der Zelle. Němec weist auf die wichtige Tatsache hin, daß die Wirkungssphäre des Zellkerns oft mit den Zellgrenzen nicht identisch ist, obschon sie sich in manchen Fällen mit den Zellgrenzen decken kann. In embryonalen Geweben ist das Verhältnis zwischen der Zell- und Kerngröße nahezu konstant. Bei der im Laufe der Entwicklung stattfindenden Spezialisation der Zellen verändern sich diese Verhältnisse, so daß in den Geweben der höheren und ausgewachsenen Pflanzen die Chromosomenanzahl in der Bestimmung der Kerngröße nicht ausschließlich maßgebend ist.

Der Verf. beweist an der Hand einiger Beispiele, daß die Kerngröße nicht nur von der Chromosomenzahl, sondern »von der Zellgröße, der Cytoplasmamasse und von der Zellfunktion« abhängig ist. Ceteris paribus reguliert die Chromosomenzahl die Kerngröße. Die Ansehauung von Della Valle, daß die absolute Menge der Chromosomensubstanz, nicht aber die Zahl der Chromosomen, hinsichtlich der Kerngröße ausschlaggebend ist, hält Němec nicht für stichhaltig. Die Erwägungen, inwieweit die Kernverschmelzungen die Kernplasmarelation verändern können, führt zu dem Schluß, daß wenn man die Kern- und Plasma m a s s e in Betracht zieht, so bleibt sie auch nach der Verschmelzung dieselbe. Es ist von Belang, daß nach der Verschmelzung die Oberfläche des Synkaryons geringer wird, als die der beiden Kerne gewesen ist.

Von großer Bedeutung ist weiter für die Physiologie der Zelle d i e L a g e d e s K e r n e s im Plasmaleib. Die Erfahrungen des Verf. haben ihn überzeugt, daß die zentrale Lage der Kerne aus einer Zusammenwirkung zwischen dem Kern und der äußeren Plasmaschicht resultiert. In den mehrkernigen Elementen ist die Lage der Kerne auch durch den physiologischen Zustand der Kerne und der Zelle bedingt, was aus den Beobachtungen diesbezüglicher Verhältnisse in Ruhe- und Teilungsphasen der mehrkernigen Euphorbiaceenelemente hervorgeht.

Die Veränderungen in der Lage der Kerne im einheitlichen plasmatischen Territorium kann eventuell zur Kernverschmelzung führen. Němec analysiert näher die im ersten Teil eingehend besprochenen Verschmelzungserscheinungen und in Berücksichtigung auch derjenigen Fälle, in welchen mehrere Kerne im einheitlichen Plasmaterritorium dicht beieinanderliegen, kommt er zu der Überzeugung, daß die Beschaffenheit der Kernmembran oft darüber entscheidet, ob die Verschmelzung stattfindet oder nicht. Sodann bespricht der Verf. verschiedene Typen der Kernverschmelzung sowohl in den vegetativen als den Geschlechtselementen. In dieser Hinsicht muß auf das Original hingewiesen werden.

Die Kernverschmelzung hat eine Erhöhung der Chromosomenzahl zur Folge und die Vermehrung der Chromosomenzahl an sich gibt den Anstoß zur eventuellen Reduktion. Die Reduktion der Chromosomen ist nach der Anschauung des Verf. als A u t o r e g u l a t i o n s prozeß aufzufassen. Němec unterscheidet die direkte und indirekte Reduktion, je nachdem die Chromosomen schon in der Prophasis direkt in reduzierter Anzahl erscheinen, oder die Teilungsfiguren der Reduktion einen abnormen, oft den allotypischen Teilungen ähnlichen Verlauf aufweisen. Němec vertritt die Ansicht, daß das Vorkommen der Reduktionsprozesse auch in Vegetativelementen sich ganz leicht in Übereinstimmung mit der Individualitätshypothese bringen läßt.

Die Chromosomenzahl wurde auch bei denjenigen Pflanzenformen untersucht, bei welchen Metagenese vorkommt. Strasburgers Forschungen haben den Beweis erbraeht, daß die beiden Generationen durch ihre Chromosomenzahl unterschieden sind. Im Lichte der Beobachtungen von de Vries ist demnach der Sporophyt eigentlich ein Doppelwesen. Němec schließt sich in der Erklärung dieser Erscheinung der bekannten Hypothose über 2x-Generation von Lotsy an und diskutiert sodann das Problem, ob die

Verdoppelung der Chromosomenzahl schon an sich einige Folgen für die morphotische Tätigkeit der betreffenden Zelle haben würde. Es handelt sich hier besonders um die Erledigung der Frage, ob die Chromosomenverdoppelung bzw. -Reduktion f o r m a t i v wirken kann. Auf Grund der Erwägungen der bisherigen Literaturangaben und eigener Experimente, besonders derjenigen, bei welchen durch Chloroformierung abnorme Kernverhältnisse hervorgerufen wurden, schließt Němec, daß der Übergang von einer Generation zur andern bei der Metakinese »jedoch nicht ursächlich mit einer Veränderung der Chromosomenzahl in der Zelle verbunden ist, woraus man wohl schließen könnte, daß die beiden Vorgänge auch in der Phylogenie nebeneinander gingen, vielleicht durch dieselben Faktoren ausgelöst, aber sonst unabhängig.«

Bekanntlich wird den Chromosomen eine entscheidende Rolle bei dem Prozeß der Übertragung von erblichen Eigenschaften zugeschrieben. Von einer sehr bedeutenden Anzahl der Biologen wird die Chromatinsubstanz als »Idioplasma« bezeichnet, und n u r das Chromatin wird als Träger der erblichen Charaktere aufgefaßt. Němec diskutiert die Frage, ob man dem Idioplasma ganz konstante chemische und physikalische Eigenschaften zuschreiben muß, oder annehmen, daß es sich im Laufe der Entwicklung chemisch verändert. Er glaubt, daß eben eine gewisse Konstanz der Eigenschaften im Begriffe des Idioplasmas steckt. In dieser Hinsicht analysiert er sodann die einzelnen Zellbestandteile mit Berücksichtigung der Resultate seiner mikrochemischen Untersuchungen und kommt auf Grund aller dieser Erwägungen zu der Überzeugung, daß die Hypothese von dem Kern als alleinigem Träger der Vererbung nicht aufrecht erhalten werden kann. Er vertritt also die Ansicht, »daß sowohl der Kern als auch das Protoplasma sich an dem Vererbungsprozeß beteiligen, wenn es auch nicht geleugnet werden darf, daß dabei dem Kern eine sehr wichtige Rolle zukommt.« Den Chromidien, Mitochondrien usw. kann in dem Vererbungsprozeß eine eminente Rolle nach Němec nicht zugeschrieben werden. Ich stimme mit ihm in dieser Beziehung vollkommen überein. Němec betrachtet die Mitochondrien als Stoffwechselprodukte, welche in besonders stark fungierenden Zellen gebildet und angehäuft werden.

Im Kapitel über das Wesen der Befruchtungsvorgänge macht der Verf. darauf aufmerksam, daß man die Verschmelzung der Pronuclei für den wesentlichen Akt der Befruchtung aufgefaßt hat. Er führt sodann die Analyse der zur Befruchtung vorbereitenden Prozesse durch, sowie auch des Kopulationsvorgangs und äußert sich endlich über das Wesen des Befruchtungsvorgangs folgendermaßen: »Was für die Befruchtung charakteristisch und specifisch ist, das scheint mir in der harmonischen Herbeiführung aller der Bedingungen zu liegen, unter welchen die Geschlechtszellen verschmelzen können. Hierauf folgt gewissermaßen automatisch auch die Kernverschmelzung und Chromosomenreduktion, allerdings nur wenn bestimmte Bedingungen realisiert sind.« Das Wesen des Entwicklungsreizes bei der Befruchtung wird vom Verf. nicht besprochen.

Im letzten Kapitel widmet Němec einige Bemerkungen dem Problem der Individualität der Zellen im Zellverbande. Obschon den einzelnen Zellelementen ein bestimmter Grad der Selbständigkeit im Leben zukommt, so ist es doch unzweifelhaft, »daß eine vielzellige Pflanze ein einheitliches Gebilde vorstellt, in welchem sich bestimmte vitale Prozesse aus einer Zelle in die andere fortpflanzen können und auch aus einem vielzelligen Organ in ein andres sich verbreiten können.« Bei der Garantierung der Selbständigkeit der Zellen und andrerseits der Einheitlichkeit des Organismus spielen die Zellenscheidewände und andrerseits Plasmodesmen eine wichtige Rolle; die Schwierigkeiten in der Erledigung des ganzen Problems liegen auch in der Entscheidung,

warum sich manche Reize leicht und breit fortpflanzen, die andern dagegen lokalisiert werden. Das System der Scheidewände mit den Plasmodesmen ist nach Němec mit einem Siebe zu vergleichen, »welches Körner von bestimmter Größe durchläßt, die übrigen jedoch zurückhält. Durch analoge Vorrichtungen wird die Individualität der Zellen bis zu einem bestimmten Grade geschaffen, andrerseits jedoch auch die Einheitlichkeit des vielzelligen Körpers gewahrt.«

Das soeben referierte Buch von Němec ist sehr klar und leicht verständlich geschrieben, und wenn man auch hier und da den Eindruck hat, daß vielleicht ein Gedanke oder irgendeine Beschreibung etwas kürzer ausgedrückt werden könnte, so beeinträchtigt es absolut nicht den großen sachlichen Wert, welcher diesem Buche zukommt. Die große Bedeutung, welche nach meiner Beurteilung das Werk von Němec hat, liegt darin, daß es nicht eine Kompilation, eine Referatenzusammenstellung ist, sondern fast alles auf eigener Erfahrung, auf eigenen Versuchen, eigenen Beobachtungen gegründet ist. Das ganze Buch berichtet über die Resultate der wissenschaftlichen Arbeit des Verf. und ich bin überzeugt, daß wenn ein Forscher, welcher selbst experimentiert und eigene Beobachtungen ausgeführt hat, das Buch von Němec durchlesen wird, er das sehr große Verdienst von Němec für die Biologie anerkennen muß.

Der Gedanke der Untersuchung der Kernverhältnisse einschließlich der Kernverschmelzung in v e g e t a t i v e n Geweben ist ganz original und kann wirklich sehr anregend für die weiteren Forschungen sein. Besonders spärlich sind z. B. unsre Erfahrungen in dieser Beziehung am tierischen Material. Hervorzuheben sind ferner seine mikrochemischen Studien, welche sehr wichtige Anhaltspunkte zur genaueren Analyse der cytologischen Gebilde liefern und deren Methoden sicher oft mit bestem Erfolg angewandt werden können.

Aus der Art und Weise, wie die Probleme besprochen werden, ist nicht nur die genaue Kenntnis der Literatur zu ersehen, sondern auch das gründliche Durchdenken der Probleme und Streitfragen, welche von Němec diskutiert werden.

E. Godlewski jun. (Krakau).

The Sex-Chromosomes in Ascaris felis.

By

Charles Lincoln Edwards.

(From the Zoological Institute, Würzburg.)

With plate XXVIII.

In spite of the belief of some authors that sex-chromosomes do not exist, and of the objections of others against the theory that these bodies are sex-determinants, the facts now demonstrated in various orders of insects, in Nematodes, sea-urchins (Baltzer 1909) the opossum (Jordan 1911), the guinea-pig (Stevens 1911b), and man (Guyer 1910), can scarcely admit of a doubt of the essential relationship of the idiochromosomes to the production of sex. While skeptical "that particular chromosomes alone are sex-determinants" Montgomery (1910) makes the general admission that "In all probability the activities of the chromosomes are influential in establishing sex, but not in the crude way in which the process has been imagined". Morgan (1909) believes that the idiochromosomes "may follow sex or be associated with other differences that determine sex, rather than be its sole cause". It may be some time before we know about the final causation of sex and consequently, for the present, it is rational to agree with Wilson (1911a), that the sex-chromosomes constitute "one link, probably an essential one, in a chain of factors by which sex is determined and inherited".

The presence of sex-chromosomes in Nematodes has been established by work done in the Zoological Institute, Würzburg within the last two years. The occurrence of a small chromosome in *Ascaris megalocephala bivalens* was noted by Herla (1894) and Boveri (1899) and again found by the latter in 1908 in a large number of fertilized eggs of different females. Boring (1909) who made a careful study of this material found

the small chromosome in 32% of the 343 fertilized bivalens eggs examined, and Boveri (1909b), concluded that this small body is an X-chromosome which in general may remain united to one of the autosomes. In the same paper Boveri announced the finding by himself and Gulick of an X-chromosome in *Heterakis*. In my study of the spermatogenesis of *Ascaris megalocephala* (1910a, b), I found two worms in which the history of the X-chromosome was followed from the spermatogonial divisions to the formation of the spermatid nuclei, and another worm from which the section containing the maturation divisions was lost but which showed the typical X-element in the primary spermatocytes. Thus in three out of the forty-five worms from one horse, in the series of many hundreds of spermatogenous cells examined, without exception the X-chromosome appeared in perfect distinctness and independence. In *Ascaris lumbricoides* I have demonstrated that the X-chromosome is a multiple, in the form of a group of five components. In the course of studies upon other species, using methods already given (1910b), I found the number and grouping of chromosomes in the spermatogenesis of the *Ascaris* of the cat entirely different from that described by Marcus (1906), for the *Ascaris* of the dog. This proved to be a cytological confirmation of the conclusion of Glaue (1909), that *Ascaris canis* and *Ascaris felis* are distinct species.

In the nuclei of the first spermatocytes of *Ascaris felis*, shortly before the division, there are eight bivalent autosomes, and one pair of unequal chromosomes, conspicuous in size and comparable to the X- and Y-chromosomes described in the Hemiptera and other insects (Figs. 1 and 2). The autosomes, for the most part distinctly tetrads, are somewhat variable in size but the differences are too slight to permit formulation. The idiochromosome pair consists of two joined together at their ends, the larger (X), being about double the length of the smaller (Y)[1]). In most of the nuclei the two idiochromosomes show a clearly marked longitudinal division (Fig. 2).

Fig. 3 presents a polar view of the equatorial plate of the first spermatocyte division and Fig. 4, a side view of the same stage in optical section. The idiochromosome pair is so greatly shortened while correspondingly thickened, that, as seen from the side, it projects only a little beyond the plate of autosomes. The X-chromosome is turned toward one pole

[1]) Professor Boveri (1911) is inclined to the interpretation that this Y-element, taken together with an equally large piece of the X-element, represents an autosome pair with which is here united as a partner an X-chromosome which in other Nematodes is independent.

and the Y-chromosome toward the other. With the beginning of the metaphase (Fig. 5), both elements are again elongated and then pass to opposite daughter plates.

Different views of daughter plates of the first division when they have become widely separated are shown in Figs. 6 and 7. The Y-chromosome is recognized in one plate and in the other, the X-chromosome, twice as large as the Y, and, as a rule, both show longitudinal division. Fig. 8 presents a polar view of a similar group, which belongs to a secondary spermatocyte immediately after separation from its sister cell.

Optical sections of the equatorial plates of the second division are shown in Figs. 9a and b. The two cells, containing these plates, are firmly joined together and both spindles stand parallel, hence it is scarcely to be doubted that the two are sister cells. In the one plate a Y-element (a), can be distinguished and in the other, an X-element (b). Both lie with their longitudinal slits in the equatorial plane and now become equationally divided. Thus arise from the one, two spermatids with X-chromosomes, and from the other, two with Y-chromosomes.

In the developing spermatid nuclei, the nine chromosomes are arranged more or less clearly in a ring, in which the idiochromosome is visible for some time as a thickening.

Unfortunately I have not yet been able to make a study of the ovogenesis of *Ascaris felis*, but I think we may safely assume a condition in the female similar to that found by Wilson (1905a, b, c, 1906) and by Payne (1908), in Hemiptera and by Stevens (1905, 1908, 1910, 1911a), in the coleopteral genus *Tenebrio*, and in a number of Diptera, where the female contains two X's instead of X- and Y-chromosomes. Provisionally then we may accept as the formula for sex-production in *Ascaris felis*:

a) Egg X + Spermatozoon X = XX (Female),

b) Egg X + Spermatozoon Y = X Y (Male).

Wilson (1911b) has shown that the general result of observation is "that in each species all the essential relations in the distribution of the chromosomes conform with wonderful fidelity to the specific type. So true is this, that the species may often at once be identified by an experienced observer from a single chromosome group at any stage of the maturation process". The sex-chromatin is represented in *Ascaris megalocephala* by a simplex X-element, only exceptionally free from union with one of the autosomes, and in *Ascaris lumbricoides* by a multiple of five X-components, while in *Ascaris felis* the X-chromosome is accom-

panied by a smaller Y-element. Thus in the different species of *Ascaris* there is, as in the Hemiptera (Wilson), great diversity from species to species, rather than the more uniform relations of the Acrididae (McClung).

I desire to acknowledge my indebtedness to Professor Boveri for his counsel in the preparation of this paper.

Literature.

1909. Baltzer, F. Die Chromosomen von Strongylocentrotus lividus und Echinus microtuberculatus. Arch. f. Zellforschung. Bd. III. Hft. 1, 2.

1909. Boring, A. M. A small chromosome in Ascaris megalocephala. Arch. f. Zellforschung. Bd. IV. Hft. 1.

1899. Boveri, Th. Die Entwicklung von Ascaris megalocephala mit besonderer Rücksicht auf die Kernverhältnisse. Festschrift für C. von Kupffer.

1909a. — Über Beziehungen des Chromatins zur Geschlechtsbestimmung. Sitzungsber. d. phys.-med. Ges. Würzburg 1908—1909.

1909b. — Über Geschlechtschromosomen bei Nematoden. Arch. f. Zellforschung. Bd. IV. Hft. 1.

1911. — Über das Verhalten der Geschlechtschromosomen bei Hermaphroditismus. Beobachtungen an Rhabditis nigrovenosa. Verh. d. phys. med. Ges. Würzburg. N. F. Bd. XLI.

1910a. Edwards, C. L. The Sex-determining Chromosomes in Ascaris. Science. Vol. XXXI. (196).

1910b. — The Idiochromosomes in Ascaris megalocephala and Ascaris lumbricoides. Arch. f. Zellforschung. Bd. V. Hft. 3.

1909. Glaue, H. Zur Unterscheidung von Ascaris canis und A. felis (Ascaris canis s. mystax). Ein Beitrag zur Systematik der Nematoden. Zool. Anz. Bd. XXXIII.

1910. Guyer, M. F. Accessory Chromosomes in Man. Biol. Bull. Vol. XIX. Nr. 4.

1894. Herla, O. Etude des Variations de la Mitose chez l'Ascaride mégalocéphale. Arch. Biol. Tom. XIII.

1911. Jordan, E. H. The Spermatogenesis of the Opossum. Science. N. S. Vol. XXXIII. (845).

1906. Marcus, H. Ei und Samenreife bei Ascaris canis (Werner) (Ascaris mystax). Arch. mikrosk. Anat. Bd. LXVIII.

1900. McClung, C. E. The Spermatocyte Divisions of the Acrididae. Sci. Bull., Univ. of Kansas. Vol. IX. (1).

1902a. — The Spermatocyte Divisions of the Locustidae. Ibid. Vol. XI. (8).

1902b. — The Accessory Chromosome — Sex Determinant? Biol. Bull. Vol. III. (1, 2).

1905. — The Chromosome Complex of Orthopteran Spermatocytes. Ibid. Vol. IX. (5).

1910. Montgomery, T. H. Are Particular Chromosomes Sex Determinants? Biol. Bull. Vol. XIX.

1909. Morgan, T. H. A Biological and Cytological Study of Sex Determination in Phylloxerans and Aphids. Journ. Exp. Zool. Vol. VII.

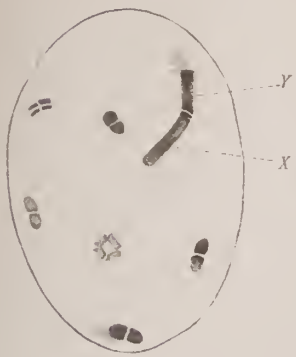


Fig. 1.

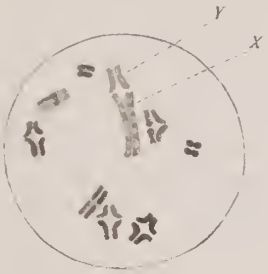


Fig 2.

Fig. 3.

Fig 4.

Fig. 5.

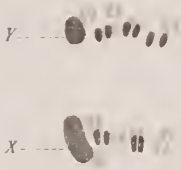


Fig. 6.

Fig. 7.

Fig. 8.

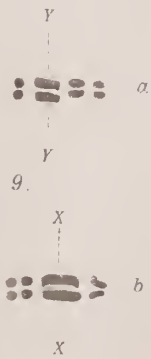


Fig. 9.

1908. Payne, F. On the Sexual Differences of the Chromosome Groups in Galgulus oculatus. Biol. Bull. Vol. XIV.
1905. Stevens, N. M. Studies in Spermatogenesis with Especial Reference to the "Accessory Chromosome". Carnegie Inst. Publ. (36).
1908. — A Study of the Germ Cells of Certain Diptera, with Reference to the Heterochromosomes and the Phenomena of Synapsis. Journ. Exp. Zool. Vol. V.
1910. — The Chromosomes in the Germ Cells of Culex. Ibid. Vol. VIII.
1911a. — Further Studies on Heterochromosomes in Mosquitoes. Biol. Bull. Vol. XX. (2).
1911b. — Preliminary Note on Heterochromosomes in the Guinea Pig. Ibidem. Vol. XX (2)
1905a Wilson, E. B. Studies on Chromosomes. I. The Behavior of the Idiochromosomes in Hemiptera. Journ. Exp. Zool. Vol. II. (3).
1905b. — II. The paired Microchromosomes, Idiochromosomes and heterotropic Chromosomes in Hemiptera. Ibid. Vol. II. (4).
1905c. — The Chromosomes in Relation to the Determination of Sex. Science. N. S. Vol. XX. (564).
1906. — III. The sexual Differences of the Chromosome Groups in Hemiptera, with some Considerations on the Determination and Heredity of Sex. Journ. Exp. Zool. Vol. III. (1).
1911a. — The Sex Chromosomes. Arch. f. mikrosk. Anat. Vol. LXXVI.
1911b. — VII. A Review of the Chromosomes of Nezara; with some more general Considerations. Journ. Morph. Vol. XXII. (1).

Explanation of Plate XXVIII.

Ascaris felis.

The figures were drawn with a Zeiss 2 mm. oil immersion objective and a Zeiss compensating ocular 12, giving a magnification of 2280.

Figs. 1 and 2. Nuclei of first spermatocytes with eight bivalent autosomes and the X Y-pair of idiochromosomes.

Fig. 3. Equatorial plate of first division, polar view.

Fig. 4. Equatorial plate of first division, side view, optical section. Only three of the eight autosomes are drawn.

Fig. 5. Optical section of the first division metaphase.

Fig. 6. First division anaphase, side view.

Fig. 7. First division late anaphase: daughter groups of eight autosomes, the lower having in addition the X-chromosome, the upper, the Y-chromosome.

Fig. 8. Chromatin group of second spermatocyte: eight autosomes and the X-chromosome.

Figs. 9a und b. Second division. Optical sections of equatorial plates of two sister-spermatocytes. The lower shows the X-chromosome, the upper the Y-chromosome.

Untersuchungen über die Zwitterdrüse der Pulmonaten.

I. Die Differenzierung der Keimzellen bei Helix arbustorum.

Von

Iw. Buresch.

(Aus dem Zoologischen Institut in München.)

Mit 5 Textfiguren und Tafel XXIX—XXX.

Inhalt.

Seite

I. Übersicht der Literatur 314
II. Material und Methoden 317
III. Histologische Beschaffenheit der Zwitterdrüse . . 319
IV. Ausbildung der Zwitterdrüse. — Auffassung Ancels . . . 321
V. Differenzierung der Geschlechtselemente. — Indifferente Geschlechtszelle. — Abhängigkeit der Eizellen von den Nährzellen. — Die Follikelhülle. — Fehlen des Ovogonienstadiums 322
VI. Die Geschlechtsmetamorphose. — Die Zwitterdrüse in verschiedenen Stadien der Entwicklung. — Die Menge der Eier und Spermien in Zusammenhang mit der Erhaltung der Art. — Die Reduktion der Eier 332
VII. Wie die Geschlechtselemente nach außen gelangen. — Der Geschlechtsapparat und dessen Funktionieren. — Die Selbstbefruchtung und Selbstbegattung. — Degeneration der männlichen Geschlechtszellen als Hindernis der Selbstbefruchtung. — Freiwerden der Eier 334

I. Übersicht der Literatur.

Wie bekannt, besitzen alle lungenatmenden Schnecken eine zwitterige Geschlechtsdrüse, d. h. eine Geschlechtsdrüse, die imstande ist, männliche und weibliche Geschlechtselemente zu erzeugen. Dank diesem Hermaphroditismus stellt diese Drüse ein interessantes Untersuchungsobjekt

für wichtige biologische Fragen dar und hat schon längst die Aufmerksamkeit vieler Forscher auf sich gelenkt. Heutzutage existiert eine große Zahl von Arbeiten, welche speziell die Zwitterdrüse der Pulmonaten behandeln. Fast jede von diesen Arbeiten betrachtet die Zwitterdrüse, infolge des reichen Materials, welches sie zur Untersuchung gibt, in einer engbestimmten Richtung und wir können leicht alle diese Arbeiten in einzelne Gruppen einteilen, von welcher jede ein bestimmtes Gebiet zu untersuchen hat.

Man kann hauptsächlich sechs solche Hauptgebiete in den Untersuchungen der Zwitterdrüse unterscheiden: 1. Entwicklungsgeschichte der Zwitterdrüse; 2. Differenzierung der männlichen und weiblichen Geschlechtselemente; 3. Ovogenese; 4. Spermatogenese; 5. Geschlechtsmetamorphose; 6. phylogenetische Entstehung und Bedeutung der Zwitterdrüse.

Allein Ancel (1902) hat sich das Ziel gesteckt, die Zwitterdrüse von *Helix pomatia* allseitig zu untersuchen, aber auch seine Arbeit ist wegen der Weitläufigkeit des Themas unvollkommen geblieben.

In dem ersten Gebiete, über die Entwicklungsgeschichte der Zwitterdrüse, haben eine genügende Zahl von Autoren gearbeitet, nämlich diejenigen, welche überhaupt die Entwicklung des gesamten Geschlechtsapparats bei Pulmaten betrachtet haben. Das sind die Autoren: Eisig (1869, bei *Limnaea*); von Ihering (1875, *H. pomatia*); Rabl (1875, *Limnaea*); Jourdain (1880, *H. aspersa*); Rouzaud (1885, *Helix*, *Limax*, *Arion*); Brock (1886, *Agriolimax agrestris*) und Ancel (1902, *H. pomatia*). Besonders Ancel hat sich ausführlich mit dieser Frage beschäftigt und er ist auch der einzige, der eine klare Darstellung der Ausbildung der Zwitterdrüse bei *Helix pomatia* gegeben hat.

In dem zweiten Gebiete, über die Entstehung und die erste Differenzierung der Geschlechtselemente, ist die Zahl der Untersuchungen sehr gering, obwohl es sich hier um eine Frage von hervorragendem Interesse handelt, nämlich um die Frage der Geschlechtsbestimmung der Genitalzelle. Für Untersuchung einer solchen Frage ist eine Zwitterdrüse sehr geeignet, weil man bei ihr direkt, nebeneinander aus einem Keimepithel die Bildung der zweierlei Urgeschlechtszellen beobachten kann. Trotzdem aber sind die Untersuchungen in dieser Beziehung sehr gering. Man kann sagen, es ist nur Ancel (1902, 1903) der sich ausführlicher mit dieser Frage beschäftigt hat. Viele andre Forscher, welche die Spermatogenese und die Ovogenese untersuchen, lassen diese Frage ganz beiseite und beginnen die Beschreibung der Geschlechtszellen mit einem schon genügend entwickelten Zustand.

Über die Ovogenese ist genügend viel gearbeitet. Die Untersuchungen in dieser Richtung sind aber nicht so reich wie die über die Spermatogenese. Besonders die Erscheinungen der Reifeteilung und Befruchtung der Eier sind nicht genug untersucht. Es sind hauptsächlich die Autoren: Mark (1881, *Limax campestris*); Platner (1886a, *H. pomatia*, b, *Ar. empiricorum*); Garnault (1888—89, *H. aspersa*, *Ar. empiricorum*); Washburn (1894, *L. maximus*); Obst (1889, *Helix pomatia*, *L. maximus*); Byrnes (1899, *L. agrestis*); Linville (1900, *L. maximus*); Ancel (1902, *H. pomatia*); Lams (1910, *Ar. empiricorum*), welche sich mehr oder minder mit dieser Frage beschäftigt haben. Eine besondere Aufmerksamkeit verdienen die Arbeiten von Ancel und Lams. Der erste hat ausführlich die Wachstumsperiode der Eier bei *Helix pomatica* beschrieben; der zweite die Reifeteilungen und Befruchtung der Eier bei *Arion empiricorum*.

Eine andre Reihe von Autoren beschäftigt sich mit der sehr mannigfaltigen Spermatogenese. Es sind dies hauptsächlich die Autoren: Platner (1885—89, *H. pomatia*, *Ar. empiricorum*); Prenant (1887, *H. pomatia*, *Arion*); Zimmermann (1891, *H. pomatia*); Bolles Lee (1895 bis 1904, *H. pomatia*); Murray (1898, *H. pomatia*, *Ar. empiricorum*); Korff (1899, *H. pomatia*); Godlewski (1897, *H. pomatia*); Nusbaum (1899, *H. lutescens*); Prowazek (1901, *H. pomatia*); Ancel (1902, *H. pomatia*); Tschassownikow (1905, *H. pomatia*); Popoff (1907, *H. pomatia*); Kleinert (1909, *H. nemoralis*, *hortensis*, *pomatia*); Soos (1910, *H. arbustorum*). Alle diese Autoren untersuchen die Umwandlung der männlichen Geschlechtselemente in dem Zustand, wie sie sie im Lumen der Drüse finden, ohne sich über ihre Entstehung aus dem wandliegenden Keimepithel zu kümmern und darum sind auch in den meisten Fällen die jüngsten Elemente, die Spermatogonien, verkannt. Obwohl über Spermatogenese der Pulmonaten so viel gearbeitet worden ist, sind doch diese Untersuchungen bei weitem nicht erschöpfend. Das zeigen besonders die drei letzten Arbeiten: die von Soos, der zuerst mit Bestimmtheit die Spermatogonien festgestellt hat, die von Kleinert, der Heterochromosomen bei *Helix nemoralis* und *hortensis* gefunden hat und die von Popoff, der speziell die mitochondrialen Gebilde im Plasma der männlichen Geschlechtselemente untersucht hat. Diese letzten Gebilde sind später wieder von Legendre (1908) und Fauré-Frémiet (1910) untersucht worden.

Eine besondere Richtung in den Untersuchungen der Zwitterdrüse der Pulmonaten sind die Untersuchungen über die Funktion und den Zustand dieser Drüse während der ganzen Zeit ihrer Existenz, d. h. das was Babor (1894, 1898) »Geschlechtsmetamorphose« genannt hat. Nach

diesem Forscher sind die meisten Pulmonaten protandrisch, d. h. die Zwitterdrüse funktioniert zuerst als männliche, dann als weibliche Keimdrüse. Dieser »Cyklus der Geschlechtsentwicklung« ist aber nicht der gleiche für alle Arten. Bei *Limax maximus* z. B. ist nach Babor (1898) die Zwitterdrüse von Anfang ♀, dann ♂♀, dann ♂, dann wieder ♂♀ und zum Schluß wieder ♀. Die Untersuchungen in dieser Richtung sind sehr gering und unsicher auch für solche Arten wie *Helix pomatia*, die so oft untersucht worden ist. Wie wenig die Funktion der Zwitterdrüse erforscht ist, hat die schöne und ausführliche Arbeit von Meisenheimer (1897) gezeigt. Meisenheimer hat ausführlich die Erscheinungen der Begattung bei *Helix pomatia* in Zusammenhang mit dem Bau des gesamten Geschlechtsapparats untersucht. Bei diesen Untersuchungen ist aber unerklärt geblieben, wie die Zwitterdrüse während und nach der Begattung funktioniert, wie die Eier die Zwitterdrüse verlassen, ob eine Vereinigung der Eier mit den Spermien, die aus einer und derselben Drüse stammen, möglich ist (Ziegler, 1908), oder ob eine Selbstbegattung stattfinden kann (Simroth, 1900), oder endlich ob die aus einer Zwitterdrüse entstandenen Eier und Spermien gegeneinander indifferent sind. Mit allen diesen Fragen wollen wir uns auch in der vorliegenden Arbeit beschäftigen.

Endlich existiert eine Richtung in den Untersuchungen der Zwitterdrüse, die sich mit der phylogenetischen Entstehung und Bedeutung des Hermaphroditismus bei den Pulmonaten beschäftigt. Ein Versuch in dieser Richtung ist die Arbeit von Schapiro (1902) und teils auch die Untersuchungen Ancels (1902).

Aus diesem kurzen Überblick ist zu ersehen, daß, obwohl sehr viele Forscher sich mit der Zwitterdrüse der Pulmonaten beschäftigt haben, doch viele Fragen, und zwar die interessantesten, unerklärt geblieben sind. Meine hochverehrten Lehrer, Geheimrat Prof. R. von Hertwig und Prof. R. Goldschmidt waren es, welche meine Aufmerksamkeit auf diese Fragen gelenkt haben und zwar hauptsächlich auf die Frage nach der Entstehung der männlichen und weiblichen Geschlechtselemente aus dem Keimepithel.

Ich möchte nicht versäumen, an dieser Stelle beiden meinen verbindlichsten Dank für ihre Unterstützungen und wertvollen Ratschläge auszusprechen.

II. Material und Methoden.

Als Objekt meiner Untersuchungen habe ich die Art *Helix arbustorum* gewählt, die in der Umgebung von München stark verbreitet ist

und von welcher ich immer zahlreiche Exemplare zur Verfügung hatte. Diese Art lebt nur etwa $1^1/_2$ Jahr, welche Zeit im Vergleich mit andern Arten recht kurz ist, so daß man die Entwicklung der Zwitterdrüse durch das ganze Leben der Schnecke leicht verfolgen kann. Dann ist diese Art auch sehr leicht zu züchten. Meistens habe ich die Exemplare, welche für meine Untersuchungen benutzt wurden, im Garten des zoologischen Instituts in München auf dem Gras unter Gitterdeckeln gezüchtet.

Die Begattung der Schnecken beginnt in der Mitte des Mai und vollzieht sich den ganzen Juni hindurch. Im Juni, Juli und August erfolgt das Ablegen der Eier, aber man findet auch einzelne, verspätete Exemplare, welche ihre Eier erst im Oktober ablegen. Die Zeit von der Begattung bis zur Eiablage ist sehr verschieden. Bei zwei Exemplaren, welche am 18. Juni 1910 in Begattung traten, hat das eine nach 23, das andre nach 33 Tagen Eier abgelegt.

Die Zahl der abgelegten Eier ist 60—80, welche gewöhnlich in zwei Portionen, in Zwischenräumen von 1—8 Tagen abgelegt wurden. Aus diesen Eiern schlüpfen nach 20—25 Tagen die jungen Schnecken aus. Sie wachsen schnell an, und nachdem sie eine Größe von fast der Hälfte des Volumens ihrer Eltern erreicht haben, graben sie sich in die Erde ein, um in diesem Zustande zu überwintern. Im Frühling, während der regnerischen Tage des April, kriechen sie aus der Erde heraus und wachsen schnell zur vollen Größe an. Im Mai beginnt die Begattung und dann das Ablegen der Eier.

Nach der Eiablage, also im September, beginnen die Schnecken zu verschwinden; nur einige bleiben noch im Oktober und November am Leben, um mit Beginn der ersten Fröste sich in der Erde zu vergraben. Im nächsten Frühling jedoch findet man keine alten Exemplare mehr.

Was die Fixierungsmethoden betrifft, so wurden mit gutem Erfolg die Flüssigkeiten nach Zenker, Flemming und Hermann benutzt. Besonders gute Resultate für Fixierung des leicht schrumpfenden Keimepithels gab die bis 40° erwärmte Zenkersche Flüssigkeit.

Die sehr kleinen, jungen Schnecken wurden gewöhnlich mit der Schale zusammen in Flemmingscher Flüssigkeit konserviert, wo sie sich gleichzeitig auch entkalken. Bei größeren Schnecken wurde die Schalenspitze zerschlagen und mittels einer festen Pinzette die ersten drei Windungen, in denen sich die Leber und die Zwitterdrüse befinden, von der Schale befreit. Die Zwitterdrüse, welche in der Leber eingebettet ist, wurde gewöhnlich gemeinsam mit einem Stück der Leber konserviert. Es ist nicht nötig, die Zwitterdrüse aus der Leber herauszupräparieren und sogar nicht zu empfehlen, weil bei dieser Präparation die frei im Lumen

der Drüse liegenden männlichen Geschlechtszellen ihre normale Anordnung verlieren.

Beim Einbetten in Paraffin wurde als Zwischenmedium Chloroform benutzt. Bei der Durchtränkung mit Paraffin muß der Aufenthalt in Chloroform + Paraffin und reinem Paraffin auf möglichst kurze Zeit beschränkt sein (15′ in Ch. + Par. bei 40° und 15′ in Par. bei 60°).

Zur Färbung wurden hauptsächlich Eisenhämatoxylin nach Heidenhain oder Boraxkarmin in toto und Nachfärbung mit Delafieldschem Hämatoxylin benutzt.

Beim Schneiden wurden die Objekte in 4—5 μ dicke Schnitte zerlegt und mit Wasser aufgeklebt.

Die jungen, aus den Eiern ausgeschlüpften Schnecken habe ich in Zwischenräumen von 5—10 Tagen bis zur Zeit des Eiablegens und nach derselben konserviert. Gleichzeitig habe ich mir auch einige Notizen über den Zustand des gesamten Geschlechtsapparats gemacht. In dieser Weise bekam ich Hunderte von Präparaten, welche die Entwicklung der Zwitterdrüse durch das ganze Leben der Schnecke zeigen.

Nachdem ich diese Präparate durchgesehen hatte, erkannte ich, daß *Helix arbustorum* gar nicht so einfach protandrisch ist, wie man es gewöhnlich für *Helix*-Arten annimmt, sondern daß diese Schnecke durch ihr ganzes Leben immer zwitterig ist.

Schon die ganz junge Schnecke, die erst 2 Wochen alt ist, hat in ihrer Zwitterdrüse neben den jungen Spermatogonien auch kleine Eizellen. Die alte Schnecke besitzt aber kurz vor der Begattung ebenfalls noch immer neben den reifen Spermien und großen Ovocyten, auch Spermatogonien und kleine Eizellen, obwohl wir nach der Protandrie erwarten müssen nur Eier zu finden, welche nach der Begattung abgelegt werden.

Dieser stets zwitterige Zustand stellt uns aber viele Fragen entgegen, z. B. wie sich die beiden Geschlechtselemente bilden, wie sie in der Zwitterdrüse angeordnet sind, wie die Eier nach außen gelangen und viele andre.

Um auf alle diese Fragen Antwort zu geben, müssen wir die Histogenese der Zwitterdrüse vom Anfang ihrer Bildung an bis zum Tode der Schnecke verfolgen.

III. Histologische Beschaffenheit der Zwitterdrüse.

Die Zwitterdrüse stellt ein lappiges Gebilde dar, welches in der Leber eingebettet ist und aus zahlreichen Acini besteht. In ausgebildetem Zustand sind diese Acini dicht nebeneinander zusammengedrängt und alle vereinigen sich in einem Atrium, um dann in den Zwittergang überzugehen.

Die Wände aller Acini sind mit einer Zellenschicht ausgekleidet, oder besser gesagt, mit einer Plasmaschicht, in welcher einzelne Kerne eingebettet sind. Diese Schicht ist das Keimepithel (Taf. XXIX *Kp*), von welchem alle Elemente, die wir in der Zwitterdrüse finden, ihren Ursprung nehmen. Auf seiner Außenfläche bildet das Keimepithel eine härtere Membran, die Schneider (1908) Tunica oder Pleura (*Pl*) nennt und welche eigentlich die Hülle der Drüse darstellt.

Das wandständige Keimepithel ist ein echtes Syncytium. Auch auf den am besten fixierten Präparaten kann man keine Spur von Querwänden zwischen den Kernen dieses Epitheliums bemerken, dagegen erkennt man aber immer mit großer Deutlichkeit die flimmerepitheliale Struktur der Zwittergangswände. Das Keimepithel entsteht schon sehr früh bei der ersten Anlage der Zwitterdrüse und existiert in syncytialem Zustand während der ganzen Zeit ihrer Funktion.

An den Wänden der Drüse sind auch die jungen (*jEz*) und die schon ausgewachsenen Eizellen (*Ei*) befestigt. Diese Lage der Eizellen an der Wand ist sehr charakteristisch. Man findet in normalem Zustand vor der Begattung nie eine Eizelle im Hohlraum des Acinus und wenn sich wirklich eine dort befindet, ist sie immer in Degeneration begriffen. Die schon erwachsene Ovocyte ist von einer plasmatischen Schicht umhüllt, welche dieselbe Struktur wie das Keimepithel besitzt; oft auch Kerne, die sich gar nicht von den Kernen des Keimepithels unterscheiden lassen. Diese Hülle ist eine Follikelmembran, sie wird ursprünglich aus der Nährzelle gebildet und liefert der Eizelle Nahrung. Ihre Ausbildung wollen wir später näher erörtern.

Ein andres Zellelement, welches auch immer an der Wand des Acinus befestigt ist, sind die sogenannten Nährzellen (Ovules mâles Duvals; Cellules blastophorales Bloomfields; Basalzellen Platners; Ammen Zimmermanns). Sie charakterisieren sich durch ihre starke Färbbarkeit und ihr körnchenartiges Chromatin, welche Merkmale sie von den andern Geschlechtszellen gut unterscheiden. Diese Nährzellen sind auch immer auf der Wand der Drüse befestigt und erst, wenn sie eine gewisse Größe erreichen, lösen sie sich oft von der Wand ab, fallen ins Lumen der Drüse, wo sie langsam degenerieren und verschwinden (*dNz*).

Die Wand eines Acinus besteht also nur aus den indifferenten Zellen des Keimepithels, aus den Eizellen und den Nährzellen.

Die männlichen Geschlechtselemente dagegen sind nur im Lumen der Drüse gelegen. Sie sind hier in allen Stadien ihrer Entwicklung vorhanden, von den Spermatogonien an bis zu den reifen Spermien.

Diese Anordnung der Geschlechtselemente, nämlich im Innern der Drüse immer die männlichen Elemente, dagegen auf den Wänden das Keimepithel, die Eizellen und die Nährzellen ist sehr charakteristisch und gestattet schon in einer sehr jungen Zwitterdrüse diese vier Zellelemente zu unterscheiden. Diese Unterscheidung ist besonders klar bei einer schon in ihrer Entwicklung vorgerückten Zwitterdrüse, wo die Acini schon eine Menge von reifen Spermien besitzen und nicht so stark von Spermatogonien und Spermatocyten überfüllt sind.

Ein solcher Acinus ist auf der Tafel XXIX abgebildet. Diese Figur ist aus drei nacheinander folgenden Schnitten kombiniert. Das Keimepithel (*Kp*) ist deutlich auf der Wand zu unterscheiden. Es enthält kleine ovale Kerne mit klumpigem Chromatin (*Kpk*). Auf der Außenfläche ist es zu einer Hülle verdichtet, der Tunica oder Pleura (*Pl*). An verschiedenen Stellen ist das Keimepithel von größeren Zellen unterbrochen, dies sind die Nährzellen (*Nz*) oder die Eizellen (*jEz*, *Ei*). Alle übrigen Zellelemente, im Lumen des Acinus, sind die männlichen Geschlechtselemente: Spermatogonien (*Sg*), Spermatocyten (*Sc*), Spermatiden (*St*) und reife Spermien (*Sp*).

Um diese eigenartige Beschaffenheit der Zwitterdrüse und die Anordnung der Geschlechtselemente in ihr zu erklären, müssen wir zuerst kurz die Ausbildung dieser Drüse verfolgen.

IV. Ausbildung der Zwitterdrüse.

Die Entstehung und die ersten Stadien der Entwicklung der Zwitterdrüse sind sehr ausführlich von Ancel (1902) bei *Helix pomatia* beschrieben worden. Die Vorgänge der Entwicklung dieser Drüse bei *Helix arbustorum* sind ganz dieselben wie bei *Helix pomatia*, darum wollen wir diese Frage nicht näher betrachten, sondern nur das zitieren, was Ancel über diese Vorgänge resumiert. Uns interessiert dabei mehr die Entwicklung der Drüse von dem Zustand an, wenn in ihr sich die Geschlechtselemente zu differenzieren beginnen.

Ancel (1902, S. 605) schreibt über die erste Anlage der Zwitterdrüse folgendes:

«L'ébauche primordiale de la glande génitale d'*Helix* apparaît chez l'embryon quelques jours avant l'éclosion; elle est formée par un amas cellulaire situé au sein du mésoderme . . .».

«L'ébauche génitale primordiale perd sa forme arrondie; elle s'allonge légèrement et se fusionne avec le canal hermaphrodite. . . .»

«En même temps une lumière apparaît dans la glande génitale et dans le canal hermaphrodite. . . .»

«L'apparition de la lumière dans l'ébauche génitale la transforme en vésicule creuse unie par une de ses extrémités au canal hermaphrodite et renflée à l'autre. La paroi de cette vésicule est tapissée par une seule couche d'éléments constituant un véritable epithelium germinatif».

So entsteht der erste Acinus, aus welchem sich dann durch Ausdehnung und Ausstülpung der Wände neue Acini bilden. Durch diese Ausdehnung und Ausstülpung, welche durch die starke Vermehrung der Keimepithelzellen veranlaßt wird, entstehen die Hunderte Acini der Zwitterdrüse, alle mit Keimepithel von innen ausgekleidet. Alle diese Acini kommunizieren an ihren Enden miteinander, um in den Zwittergang überzugehen.

Gleichzeitig mit der Ausbildung des ersten Acinus beginnt auch die erste Differenzierung der Geschlechtselemente. Aus dem Keimepithel entstehen sowohl Eier, als auch Spermien und Nährzellen.

V. Differenzierung der Geschlechtselemente.

Mit der Frage, wie die Geschlechtselemente aus dem Keimepithel entstehen, hat sich bisher nur Ancel (1902, 1903) beschäftigt[1]). Alle andern Forscher, welche die Spermatogenese und Ovogenese der Pulmonaten beschreiben, konnten nicht verfolgen, wie die Urgeschlechtszellen entstehen und darum sind die jüngsten Geschlechtszellen fast immer verkannt worden. Als Spermatogonien sind fast immer die Spermatocyten beschrieben worden (vgl. Soos, 1910) und die Beschreibung der Ovogenese beginnt mit einer ziemlich großen Ovocyte.

Der Mißerfolg der Untersuchungen in dieser Richtung beruht auf mehreren Ursachen. Erstens ist es schwer, das Keimepithel gut zu konservieren. Die Umwandlung der Keimzellen geschieht regellos auf verschiedenen Stellen der Drüse. Diese Keimzellen sind sehr klein und stark färbbar. Man kann an ihnen schwer die Veränderungen des Chromatins, die sie durchmachen, beobachten.

Ancel ist der einzige, der sich ausführlich mit dieser Frage beschäftigt hat.

Er hat die Ausbildung der Geschlechtszellen folgendermaßen erklärt: Einige von den Kernen des Keimepithels nehmen schon in dem ersten Acinus an Größe zu, verändern allmählich die Anordnung ihres Chro-

[1]) Ältere Forscher wie Platner, Keferstein, Duval, die sich mit der Entstehung der männlichen Geschlechtselemente beschäftigt haben, lassen die Spermatogonien aus den Nährzellen — centralen Mutterzellen Kefersteins — durch Knospung entstehen.

matins und nachdem sie eine gewisse Größe erreicht haben, fallen sie ins Lumen der Drüse, wo sie sich weiter teilen und die Spermatogonien erzeugen. Nachdem diese Spermatogonien das Lumen der Drüse ausgefüllt haben und einige schon in Spermatocyten umgewandelt sind, fangen einige Zellen von Keimepithel an sich in Nährzellen umzubilden. Gleichzeitig aber mit der Bildung der Nährzellen hört die Umbildung der Keimepithelzellen in Spermatogonien auf. Haben sich einmal die Nährzellen ausgebildet, dann verwandelt sich das indifferente Keimepithel nur mehr in weibliche Elemente.

Nach Ancel bilden sich also die jungen Spermatogonien nur kurze Zeit nach dem Ausschlüpfen der jungen Schnecken, dann entstehen die Nährzellen, und wenn diese schon ausgebildet sind, dann entstehen aus dem Keimepithel nur Eizellen und keine Spermatogonien mehr. Die Bildung der Eizellen dauert also fast das ganze Leben der Schnecke. Weil die männlichen Geschlechtselemente früher ausgebildet sind als die weiblichen, darum werden sie auch früher reif und verlassen die Zwitterdrüse früher als die weiblichen. Zum Schluß bleiben in der Drüse nur Eizellen.

Die Ursache, warum die indifferenten Keimzellen einmal Spermatogonien und das andre Mal Eizellen liefern, schreibt Ancel, wie leicht verständlich, den Nährzellen zu, weil erst nach ihrer Ausbildung die Eizellen entstehen; er hat aber seine Aufmerksamkeit nicht auf eine alte Zwitterdrüse gerichtet.

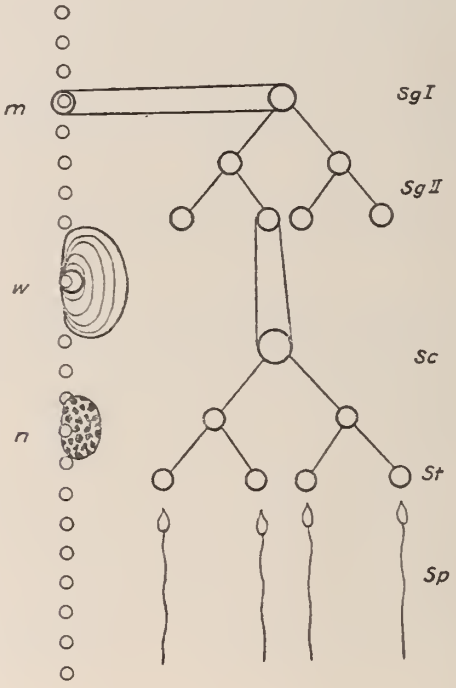
Wenn wir eine Zwitterdrüse während der Begattung untersuchen, finden wir in ihr nicht, wie man entsprechend der Annahme einer Protandrie erwarten sollte, nur Eier, sondern auch junge Spermatogonien. Ancel selbst hat auch diese jungen Spermatogonien beobachtet. Er schreibt: «Chez un certain nombre d'*Helix* adultes possédant des glandes génitales normales, nous avons retrouvé . . . des groupes de spermatogonies bien développées et remplaçant les ovocytes.» Er meint aber, daß diese Erscheinung eine Anomalie sei.

Meine Beobachtungen an der alten Zwitterdrüse haben mir aber gezeigt, daß im Gegenteil das Vorhandensein von jungen Spermatogonien in einer alten Zwitterdrüse von *Helix arbustorum* eine ganz normale Erscheinung ist. Solche jungen Spermatogonien findet man immer in der Zwitterdrüse und ihre Ausbildung aus dem Keimepithel kann man in allen Entwicklungsstadien der Drüse verfolgen. Aber auch umgekehrt, in einer sehr jungen Zwitterdrüse, wo sich im Lumen nur erst Spermatogonien befinden, findet man an den Wänden auch gut erkennbare Eizellen.

Alles das zeigt, außer der direkten Beobachtung der Umwandlung der Keimzellen in Geschlechtszellen, daß in der Zwitterdrüse sich nicht zuerst Spermatogonien, dann Nährzellen und erst dann die Eizellen bilden, sondern daß diese drei Elemente gleichzeitig aus dem Keimepithel entstehen. Die Ausbildung dieser Elemente erfolgt fortwährend und daher finden wir auch in der Zwitterdrüse immer die Geschlechtselemente fast in allen Stadien ihrer Entwicklung.

Diese Umbildungsvorgänge der Keimepithelzellen in Geschlechts-

Textfig. 1.



zellen können wir graphisch in einem Schema (Textfig. 1), ähnlich wie das von Angel gegebene, aber anders gedeutet, folgenderweise darstellen: Die vertikale Reihe von Zellen stellt die indifferent aussehenden Zellen des Keimepithels dar, welche sich gar nicht voneinander unterscheiden lassen. Manche von diesen Zellen, oder besser gesagt, von diesen Kernen, weil das Epithel ein Syncytium ist, gleichgültig welcher, z. B. *m* nimmt allmählich an Größe zu, verändert die Anordnung seines Chromatins und erreicht schließlich ein bestimmtes Stadium, das wir indifferente Geschlechtszelle nennen wollen. Nachdem dieses Stadium erreicht ist,

löst sich die Zelle von der Wand ab, fällt ins Lumen der Drüse, wo sie sich zu teilen beginnt und als Resultat viele Spermatogonien liefert.

Auf einer andern Stelle nimmt eine indifferente Keimzelle *w* ebenso allmählich an Größe zu, macht dieselben Veränderungen durch, wie die Zelle *m* und erreicht auch das Stadium, das wir indifferente Geschlechtszelle genannt haben. Wenn diese Zelle aber dieses Stadium erreicht hat, löst sie sich nicht von der Wand ab, sondern bleibt an ihrer Stelle, nimmt weiter an Größe zu, teilt sich dabei nicht und wird als Resultat zu einer Eizelle.

An einer dritten Stelle des Keimepithels nimmt der Kern einer Zelle *n* an Größe zu, zerstückelt schon früh sein Chromatin, ist charakterisiert durch starke Färbbarkeit und ohne sich zu teilen ergibt er als Resultat eine Nährzelle, welche immer ihre körnchenartige Chromatinanordnung behält.

Diese Umbildung der indifferenten Keimzellen in männliche und weibliche Geschlechtselemente erfolgt an verschiedenen Stellen der Drüse und zwar gleichzeitig, nicht nacheinander, wie es Angel beschrieben hat.

Die Fig. 1, Taf. XXX, illustriert wie die indifferenten Keimkerne sich umbilden, um das Stadium zu erreichen, das wir indifferente Geschlechtszelle genannt haben.

Die indifferenten Keimkerne sind sehr klein (4 × 6 μ), fast immer oval, mit stark färbbarem Chromatin, das in größeren Klumpen angeordnet ist. Fig. 4 stellt diese Kerne in normalem, ruhendem Zustande dar. Bei ihrer Umwandlung in Geschlechtszellen verdichtet sich gewöhnlich das Chromatin an einer Stelle und bildet einen Nucleolus. Der Kern nimmt allmählich an Größe zu, auch der Nucleolus, und schließlich erreicht der Kern ein Stadium von 7 μ mit einem großen Nucleolus in der Mitte und unregelmäßiger Anordnung der Chromatinklumpen. Dieses Stadium ist das Stadium der indifferenten Geschlechtszelle (Fig. 1, 6).

Nachdem das Stadium der indifferenten Geschlechtszelle erreicht ist, konzentriert ihr Kern, wenn die betreffende Zelle bestimmt ist ein männliches Geschlechtselement zu geben, einen Teil von Plasma um sich, löst sich von der Wand ab und fällt ins Lumen der Drüse. Hier nennen wir diese Zelle dann Spermatogonie. Diese Spermatogonie, auf Fig. 2 dargestellt, ist mit einer dünnen Schicht von Plasma umhüllt, der Kern ist vollständig rund, mit einem sehr deutlichen Nucleolus versehen. Solche Spermatogonien, welche wir Spermatogonien I. Ordnung nennen wollen, findet man immer in der Zwitterdrüse und gewöhnlich sind sie nicht weit von der Wand der Drüse gelegen. Diese Spermatogonien I. Ordnung

geben durch Teilung viele Zellen, welche viel kleiner und ganz verschieden von den Spermatogonien I. Ordnung sind. Bei dieser Teilung ist die Zahl der Chromosomen wahrscheinlich 48. Es ist schwer 48 Chromosomen nachzuweisen, bei günstiger Lage ist es aber nicht schwer mehr als 40 Chromosomen zu zählen. Bei Spermatocyten kann man jedoch leicht mit Sicherheit 24 Chromosomen nachweisen.

Als Resultat der Teilung der Spermatogonien I. Ordnung gibt es Haufen von Zellen, welche gewöhnlich dicht nebeneinander gedrängt und traubenartig miteinander verbunden sind (Fig. 3). Diese Zellen sind noch immer Spermatogonien, welche wir Spermatogonien II. Ordnung nennen wollen[1]). Ihre eigenartige Anordnung zeigt, daß sie durch rasch aufeinander folgende Teilungen entstanden sind. Diese Spermatogonien sind sehr verschieden von den Spermatogonien I. Ordnung. Sie sind kleiner (6—7 μ), ihre Kerne besitzen in ruhendem Zustande fein verteiltes Chromatin mit drei, zwei oder einem stark färbbaren Nucleolus. Die Autoren, welche richtig die Spermatogonien erkannt haben, bezeichnen diese Elemente als die jüngsten in der Zwitterdrüse. Sie sind immer in größerer Menge in der Drüse vorhanden, dagegen sind die Spermatogonien I. Ordnung immer in geringerer Zahl. Wenn man die direkte Entstehung der letzteren aus dem Keimepithel nicht verfolgen kann, so könnte man in Zweifel sein, ob wirklich diese Elemente die jüngsten sind. Diese Unsicherheit verschwindet aber auch dadurch, daß in einer sehr jungen Zwitterdrüse die ersten Zellelemente, welche man in ihrem Lumen findet, eben diese Spermatogonien I. Ordnung sind und keine andern.

Die Spermatogonien II. Ordnung bilden durch Anwachsen die Spermatocyten und diese durch zwei nacheinander folgende Teilungen die Spermatiden, dann die Spermien. Diese Vorgänge hat Soos (1910) ausführlich bei *Helix arbustorum* beschrieben und darum wollen wir nicht näher darauf eingehen.

Ganz anders ist die Entwicklung der weiblichen Geschlechtselemente.

Eine indifferente Keimzelle, welche bestimmt ist, ein weibliches Geschlechtselement zu bilden, erleidet im Anfang dieselben Veränderungen wie jene, welche ein männliches Geschlechtselement zu geben bestimmt ist (Fig. 4, 5, 6). Diese Veränderungen führen sie zum Stadium der indifferenten Geschlechtszelle, welches ganz dasselbe ist wie bei den männlichen Geschlechtselementen (Fig. 6). Bis zu diesem Stadium unterscheiden sich die beiden Elemente in ihrer Entwicklung überhaupt nicht.

[1]) Diese Spermatogonien II. Ordnung sind nicht die Spermatogonien II. Ordnung Angels, der mit diesem Namen die Spermatocyten bezeichnet.

Gleich nach diesem Moment aber ist die Entwicklung der weiblichen Geschlechtselemente vollständig verschieden von der der männlichen. Die indifferente Geschlechtszelle, welche bestimmt ist ein Ei zu geben, löst sich nicht vom Keimepithel los, sondern bleibt in ihm, um weiter an Größe zuzunehmen. Ihr Kern wird immer größer und größer, teilt sich jedoch nicht, um ihn grenzt sich ein größerer Teil von Plasma ab und in dieser Weise geht die indifferente Geschlechtszelle direkt, ohne sich vorher zu teilen, nur durch Anwachsen, in eine Ovocyte über. Bei diesem Wachstum macht der Kern einige unwesentliche Veränderungen durch (Fig. 7, 8, 9), der große Nucleolus bildet sich in einen Doppelnucleolus um, so wie es ausführlich Ancel (1902) bei *Helix*, Lams (1910) bei *Arion* beschrieben haben. Schließlich erreicht die Ovocyte eine Größe von etwa 36 μ, mit Kern von 13 μ, in welchem ein großer Plastinnucleolus (Fig. 9) liegt. In solchem Zustand wandert die Ovocyte aus der Zwitterdrüse aus, um im Zwittergang oder Uterus die Reifeteilungen durchzumachen.

Wir sehen also, daß die Eizelle bei ihrer Entwicklung bis zum Moment der Reifeteilungen, in unserm Falle durch die ganze Zeit des Aufenthalts in der Zwitterdrüse, keine Teilungen durchmacht. In ihrer Entwicklung können wir keine Stadien unterscheiden, die wir Ovogonien nennen könnten. Von Anfang an ist die Eizelle immer in Wachstumsperiode.

Das Stadium der indifferenten Geschlechtszelle ist sehr wichtig, weil bis zu diesem Stadium die beiden Geschlechtszellen sich vollkommen gleich entwickeln. Erst nach diesem Stadium können wir unterscheiden, ob die Zelle männlich oder weiblich wird. »In diesem Punkt muß sich also, wie Goldschmidt (1910, S. 36) sagt, die indifferente Geschlechtszelle entscheiden, ob sie nach männlicher oder weiblicher Richtung weitergehen will«.

Ob aber eine indifferente Geschlechtszelle sich in männlicher oder weiblicher Richtung weiter entwickeln wird, das können wir schon sehr früh sagen, nämlich nach der Lage dieser Zelle näher oder weiter von einer Nährzelle.

Wenn wir auf einem Präparat der Zwitterdrüse sorgfältig die gut bemerkbaren Ovocyten besichtigen, so finden wir neben den Ovocyten, selbst neben den jüngsten, immer eine oder mehrere Nährzellen. Diese Abhängigkeit zwischen Ei- und Nährzellen ist sehr charakteristisch und wir können eine Nährzelle ohne eine nebenstehende Eizelle finden, aber nie eine Eizelle ohne eine dicht danebenstehende Nährzelle.

Die Nährzelle ist auch eine umgebildete Keimepithelzelle, welche ähnlich wie die Eizelle sich nicht teilt, sondern immer wächst. Ihr Plasma-

leib ist nicht scharf abgetrennt. Wenn die Zelle im Keimepithel liegt, können wir nicht ihre Grenze erkennen (Taf. XXX, Fig. 5, 6, 7). Nur wenn sie ins Lumen der Drüse gefallen ist, können wir gut einen Saum von Plasma um den Kern unterscheiden. Sehr charakteristisch ist der bis 15 μ große Kern der Nährzelle. Sein in Brocken verteiltes Chromatin deutet auf eine starke Tätigkeit. Die Nährzelle nimmt aus den Wänden der Drüse Nahrungsmaterial, bildet dasselbe um, um es der Geschlechtszelle zu übergeben. Diese ihre Funktion ist ausführlich von Prowazek (1902), Angel (1902), Lams (1910) u. a. besprochen. Mit ihrer Entstehung direkt aus einer Keimzelle hat sich de Bruyne (1902) bei verschiedenen Gastropoden eingehend beschäftigt.

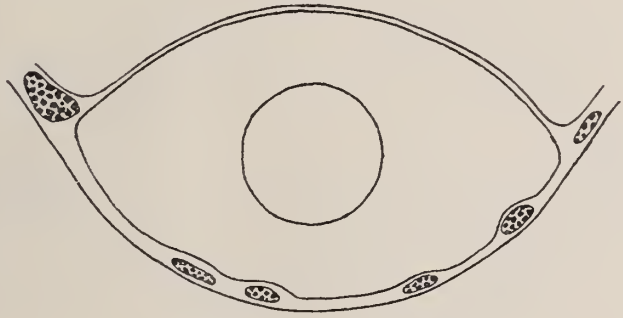
Die Abhängigkeit der Eizelle von der Nährzelle ist sehr charakteristisch. Wie wir schon gesagt haben, ist die Eizelle immer von einer Nährzelle begleitet. Ähnliche Abhängigkeit ist auch in der Geschlechtsdrüse andrer Tiere beobachtet, besonders auffallend ist sie beim hermaphroditischen Wurm *Ophryotrocha puerilis* (Korschelt, Braem, 1894). Hier lösen sich aber die beiden Zellen schon früh vom Keimepithel ab, und beide zusammen flottieren in der Leibeshöhle.

Auf Grund dieser Abhängigkeit zwischen Ei- und Nährzelle können wir sagen, daß die günstigen oder ungünstigen Ernährungsbedingungen der sich entwickelnden Keimzelle die Ursachen sind, die sie zwingen, nach männlicher oder weiblicher Richtung sich zu entwickeln. Wenn die indifferente Keimzelle bei ihrer Umwandlung in die Geschlechtszelle, in dem Stadium, das wir indifferente Geschlechtszelle genannt haben, mit viel Nahrungsmaterial versehen ist, d. h. wenn neben ihr eine Nährzelle liegt, so löst sie sich nicht von ihrer Stelle los, sondern nimmt stark an Größe zu und geht, ohne sich zu teilen, in eine Eizelle über. Wenn dagegen die indifferente Geschlechtszelle in ungünstiger Lage zum Nahrungsmaterial sich befindet, wenn also neben ihr keine Nährzelle liegt, so löst sie sich vom Keimepithel ab, fällt mit sehr wenig Plasma versehen ins Lumen der Drüse, wo sie sich weiter teilt und mehrere Spermatogonien erzeugt.

Die Abhängigkeit zwischen Nährzellen und Eizellen wird noch stärker ausgeprägt durch Bildung der Follikelwand. Die Follikelwand ist eine plasmatische Membran, welche die Ovocyte umschließt und auf der Wand der Drüse befestigt (Taf. XXIX, *Fw*, Taf. XXX, Fig. 8, 9). Sie dient dazu, der Eizelle die Nahrung, welche die Nährzelle liefert, zu übermitteln. Sie hat dieselbe Struktur wie das Keimepithel und besitzt auch Kerne, die sich gar nicht von den Kernen des Keimepithels unterscheiden lassen.

Nach Rouzaud (1885), Platner (1886a), Obst (1899), Prowazek (1901) dienen die Follikelzellen der Eizelle als Nahrung und werden auch von der letzteren verzehrt. Sie haben auch diese Zellen innerhalb der Ovocyte gefunden. Die Angaben dieser Autoren sind aber nicht richtig. Ancel (1902) und Lams (1910) haben schon gezeigt, daß nie eine Follikelzelle im Innern der Ovocyte zu finden ist. Der Fehler der oben genannten Autoren beruht auf dem Umstand, daß sie ihre Beobachtungen an degenerierenden Ovocyten gemacht haben. Bei dieser Degeneration verliert die Ovocyte ihre rundliche Form und scharfe Kontur und scheint die Follikelkerne zu umschließen. Dabei entstehen bei einer degenerierenden Ovocyte stark mit Eisen-Hämatoxylin färbbare Einschlüsse,

Textfig. 2.



welche aussehen wie ins Plasma der Ovocyte hineingezogene Follikelkerne. Zu denselben Forgerungen ist auch Mirabella (1903) bei *Helix aspersa* gekommen.

Um die richtige Beschaffenheit der Follikelwand und ihre Bedeutung zu erkennen, müssen wir ihre Ausbildung verfolgen.

Schon sehr früh nach dem Stadium der indifferenten Geschlechtszelle sendet die nebenliegende Nährzelle ihren Plasmaleib über die Ovocyte und grenzt sie vom Lumen der Drüse ab. In solchem Zustand besteht die Follikelwand nur aus der Nährzelle und ihrem Plasmaleib, wie es auf Taf. XXX, Fig. 9, abgebildet ist. Diese plasmatische Follikelwand ermöglicht der Nährzelle, das Nahrungsmaterial von allen Seiten der Eizelle zu übergeben.

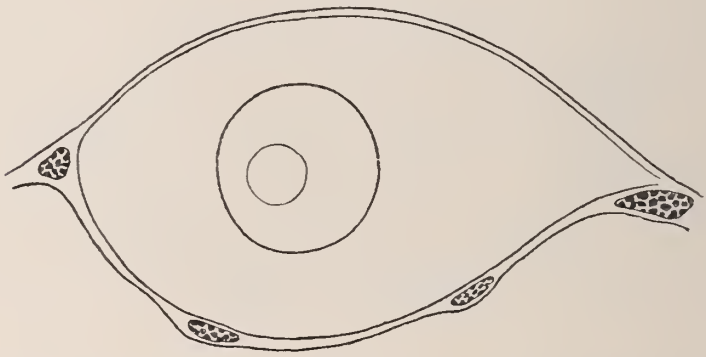
Nach Ausbildung der Follikelmembran wächst die Ovocyte stark an und bei diesem Wachstum verbreitert sie sich in einer Richtung, welche gewöhnlich der Nährzelle entgegengesetzt ist. Eine solche in Ausdehnung

sich befindende Eizelle ist fast immer auf einer Seite keilförmig zugespitzt (Fig. 8, 9). Mit diesem keilförmigen Ende schiebt sich die Zelle vorwärts, entweder unter dem Keimepithel oder oberhalb desselben.

Wenn die Ovocyte sich über das Keimepithel verbreitet, dann bleibt die Follikelwand ohne Kerne, nur mit dem Kern der Nährzelle, der gewöhnlich neben der Ovocyte liegt. In diesem Falle bleibt die Follikelwand dieselbe wie im Anfang nur aus der Nährzelle gebildete strukturlose Hülle. Das Keimepithel bleibt dabei unter der Ovocyte liegen (Textfig. 2).

Wenn die Ovocyte bei ihrem Wachstum sich unter das Keimepithel hineinzieht, dann kommt dieses über die Ovocyte zu liegen und bildet nun zusammen mit der Nährzelle die Follikelwand. In diesem Falle besitzt die Follikelwand Kerne, welche aber nicht aus dem Kern der

Textfig. 3.



Nährzelle gebildet sind, sondern die Kerne des Keimepithels darstellen. Unter der Ovocyte findet man dann kein Keimepithel, die Ovocyte ist direkt auf der Pleura der Drüse befestigt (Textfig. 3).

Es sind auch andre Modifikationen möglich. Die Ovocyte kann sich auch unter eine Nährzelle hineinziehen, dann kommt dieselbe auf die Eizelle zu liegen und nicht neben sie, wie es gewöhnlich der Fall ist. Oder die Ovocyte kann sich anfangs unter dem Keimepithel und dann oberhalb desselben verbreiten. Oder zwei Nährzellen können die Follikelwand bilden u. a.

Die Keimepithelzellen, welche sich an der Follikelwandbildung beteiligt haben, bilden sich dann später gewöhnlich in Nährzellen um.

Eine andre Besonderheit, welche bei der Entwicklung der Eizelle auffällt, ist der Umstand, daß diese Zelle bis zu den Reifeteilungen sich überhaupt nicht teilt.

In dem Umstand, daß sich die Eizelle nicht teilt, müssen wir eine besondere Ersparung der Tätigkeit der Zwitterdrüse bemerken. Die Teilung der Ovogonien hat im allgemeinen den Zweck, die Menge der Eier zu vergrößern, was im Zusammenhang mit der Erhaltung der Art steht. Bei *Helix* ist aber die Arterhaltung durch viele andre Einrichtungen garantiert, z. B. die Schale der Eier, die direkte Entwicklung, die feste Schale der Schnecke u. a. Darum legen auch die *Helix*-Arten eine kleine Zahl von Eiern ab, z. B. *Helix arbustorum* nicht mehr als 80 Eier. Diese Eier besitzen eine derbe Schale, die oft stark mit Kalziumkarbonat imprägniert ist und welche die Eier vor Austrocknung schützt. Diese Einrichtung wird noch verbessert durch den Umstand, daß die Eier in tief in der Erde ausgegrabene Nester abgelegt und dann sorgfältig bedeckt werden. Diese Einrichtungen geben die Möglichkeit, daß der größte Teil der Eier zur Entwicklung kommt. Die Entwicklung der Eier ist direkt, die junge Schnecke verläßt das Ei schon vollentwickelt, mit einer Schale versehen, welche sie auch vor äußeren Schädlichkeiten schützt. Alle diese Schutzvorrichtungen der Eier und der jungen Schnecken garantieren die Erhaltung der Art und darum ist auch eine große Menge von Eiern nicht nötig.

Weil andrerseits die Entwicklung direkt ist und die jungen Schnecken die Eier vollentwickelt verlassen, müssen diese Eier auch mit viel Nahrungsmaterial versehen sein, welches diese direkte Entwicklung garantieren kann. Um das zu verwirklichen, müssen die Eier sehr groß sein, was eben bei *Helix* der Fall ist, und sie müssen an einer Stelle liegen, an der sie reichlich ernährt werden können, nämlich neben einer Nährzelle. Eine große Zahl von solchen Eiern kann sich aber nicht in der Zwitterdrüse entwickeln. Daher muß ihre Zahl reduziert werden, was durch vollständigen Mangel der Ovogonienteilung geschieht. Wir werden später sehen, daß auch diese Reduktion nicht genügt und daß viele Ovocyten degenerieren, um Platz nur für einige wenige zu geben, welche dann stark auswachsen und schließlich abgelegt werden.

Im Gegensatz hierzu ist die Zahl der Spermien eine ungeheure. Das ist durch den Umstand bedingt, daß alle *Helix*-Arten nur kurze Zeit leben, so *Helix arbustorum* nur $1^1/_2$ Jahr, und in dieser Zeit nur einmal geschlechtsreif und fähig sind Eier abzulegen. Wegen dieses Umstandes muß die Schnecke in der kurzen Geschlechtsreifeperiode fähig sein, mehrere Male nacheinander die Kopulation zustande zu bringen und in dieser Weise möglichst viele Individuen zu befruchten. Um dies fertig zu bringen, muß die Schnecke eine große Menge von Spermien besitzen, welche durch besondere Einrichtungen in Portionen entleert werden können. Die un-

geheure Menge der Spermien wird erreicht durch die mehrmalige Teilung der Spermatogonien und durch Bildung reifer Spermien fast durch das ganze Leben der Schnecke. Der zweite Umstand wird verwirklicht durch Bildung mehrerer Spermatophoren, welche in kurzer Zeit nacheinander gebildet werden können und portionsweise das Sperma entleeren.

Diese Frage wollen wir später noch weiter erörtern.

Eine indifferente Zelle also, welche sich in weiblicher Richtung weiterentwickelt, macht außer den Reifeteilungen keine andre Teilungen durch und infolgedessen ergibt sie als Resultat nur ein Ei. Im Gegensatz hierzu erfährt eine indifferente Keimzelle, welche sich in männlicher Richtung entwickelt, mehrmalige Teilungen, zuerst die Teilungen als Spermatogonie, dann die Reifeteilungen und als Resultat entstehen mehrere Spermien.

VI. Die Geschlechtsmetamorphose.

Wir haben verfolgt, wie die Zwitterdrüse entsteht, wie sich das Keimepithel ausbildet und wie aus ihm die Geschlechtselemente entstehen. Jetzt sollten wir die Geschlechtselemente weiter in ihrer Entwicklung verfolgen, nämlich die Spermatogenese und die Ovogenese. Über Ovogenese und Spermatogenese bei Pulmonaten ist schon sehr viel gearbeitet worden, wie wir es schon beim Überblick der Literatur gesehen haben. Ich möchte nur die Arbeiten von Bolles Lee (1897—1904) und Soos (1910) über die Spermatogenese und die von Angel (1902) und Lams (1910) über die Ovogenese erwähnen.

Uns interessiert mehr eine andere Frage, nämlich die Geschlechtsmetamorphose, d. h. in welchem Zustande sich die Zwitterdrüse befindet in verschiedenen Momenten ihrer Entwicklung.

Wenn wir die Zwitterdrüse einer sehr jungen Schnecke einige Tage nach dem Ausschlüpfen betrachten, so finden wir sie nur aus einigen Acini gebildet, welche fast hohl sind oder nur wenige Spermatogonien besitzen, die eben aus dem Keimepithel herausgefallen sind. Ihrer Struktur nach sind es Spermatogonien I. Ordnung. Im Keimepithel können wir unterscheiden viele Keimkerne in Umwandlung in indifferente Geschlechtszellen begriffen und einige, die schon dieses Stadium überschritten haben und die ersten Merkmale der jungen Ovocyte zeigen.

In einer ein wenig älteren Drüse, von einer ungefähr 3 Wochen alten Schnecke, finden wir im Lumen der schon in größerer Zahl vorhandenen Acini eine Menge von Spermatogonien, welche hauptsächlich die von uns beschriebenen Spermatogonien II. Ordnung darstellen und welche durch Teilung aus den Spermatogonien I. Ordnung entstanden sind.

Auf den Wänden der Acini finden wir dann schon große Ovocyten, aber auch einige in sehr jungem Zustand.

In einer noch älteren Drüse, von einer $1^1/_2$—2 Monate alten Schnecke, finden wir die Acini überfüllt mit Spermatogonien I. und II. Ordnung und Spermatocyten, einige schon in Reifeteilungen. Noch später finden wir schon reife Spermien und gemeinsam mit diesen auch alle jüngeren Stadien. Dieser Zustand der Zwitterdrüse, der auf Taf. I abgebildet ist, bleibt dann immer derselbe bis zur Begattung. Bis zu dieser Zeit kann man immer die Bildung neuer Spermatogonien und Eizellen beobachten.

Die fortwährende Bildung neuer Spermatogonien und Eizellen fast das ganze Leben der Schnecke hindurch hat die fortwährende Vergrößerung der Menge der fertigen Spermien und Eier zur Folge. In Wirklichkeit ist es aber so nur für die männlichen Geschlechtselemente und nicht für die weiblichen.

Wir haben schon gesagt, daß die Schnecke nicht mehr als 80 Eier ablegt und auch in einer schon reifen Zwitterdrüse finden wir nur eine geringe Zahl von Ovocyten. Diese geringe Zahl der Ovocyten ist eine Folge des Mangels des Ovogonienstadiums. Aber auch nicht alle aus dem Keimepithel entstandenen Ovocyten gelangen zur Reife. Ein großer Teil von ihnen degeneriert noch in der Wachstumsperiode. Diese Degeneration vernichtet ständig die älteren Ovocyten, um Platz für die jüngeren zu schaffen.

Bei dieser Degeneration entstehen zuerst im Plasma stark mit Eisenhämatoxylin färbbare Klumpen, Fädchen oder sternartige Gebilde, die Ovocyte verliert ihre ovale Form, wird unregelmäßig und löst sich schließlich von der Wand ab, fällt ins Lumen der Drüse, wo die Degeneration weiter geht.

Viele von den Autoren, welche sich mit der Ovogenese der Pulmonaten beschäftigten, beschreiben sehr oft im Plasma der Ovocyte verschiedenartige, mit Eisenhämatoxylin sich färbende Gebilde, welche sie als Mitochondrien, Pseudochromosomen, Ergastoplasma bezeichnen. Ihre Zeichnungen aber zeigen oft, daß alle diese Gebilde nicht nach einer normalen Ovocyte, sondern nach einer in Degeneration befindlichen beschrieben sind und infolgedessen keine mitochondrialen, sondern degenerative Gebilde darstellen. (Z. B. Henschen 1903, Fig. 3, 4, 6, 7 für *H. pomatia*; Fig. 10 für *L. stagnalis*.)

Die normale ausgewachsene Ovocyte besitzt immer eine gut abgerundete Form, ihr Plasma ist feinkörnig mit ganz feinen mit Eisen-

hämatoxylin schwarz sich färbenden Körnchen, besitzt aber nie andre Gebilde, welche diese gleichartige Struktur stören könnten.

Die Degeneration einer gewissen Zahl der Eizellen ist eine normale Erscheinung, und man kann sie fast auf jedem Präparat verfolgen. Die gelben Körnchen, als Rest der Degeneration, werden von den männlichen Geschlechtselementen, welche im Lumen der Drüse sich entwickeln, als Nahrung benutzt.

Eine solche Degeneration ist nicht nur bei *Helix*, sondern auch bei andern Gastropoden sehr oft beschrieben. Wir haben schon gesagt, daß sie in Zusammenhang mit der geringeren Zahl der Eier steht, welche ihrerseits verschiedene Einrichtungen besitzen, um die Entwicklung der Schnecke zu garantieren. Diese Abhängigkeit ist besonders stark ausgeprägt bei den lebendiggebärenden Arten wie *Paludina vivipara*, wo die Eier und auch die jungen Schnecken bis zu ihrer vollen Entwicklung vollständig im Körper der Mutter geschützt sind. Von dieser Art sagt Popoff (1907), daß »eine außerordentlich große Zahl von den in Entwicklung begriffenen Eiern degeneriert und nur eine sehr geringe Zahl zur Reifung gelangt«. Das aus der Degeneration entstandene Material dient auch hier wie bei *Helix* als Nahrung der wenigen gebliebenen Geschlechtszellen.

Für die männlichen Geschlechtszellen in der Zwitterdrüse von *Helix* kommt eine solche Degeneration nicht vor. Alle Spermatogonien erreichen bei ihrer Entwicklung das Endresultat, die reifen Spermien. Weil in der Zwitterdrüse sich immer neue und neue Spermatogonien bilden, wird auch die Menge der Spermien immer größer. Schon in einer 3 Monate alten Schnecke können wir reife Spermien finden und dann später sehen wir immer solche Spermien in der Zwitterdrüse. Die ausgebildeten Spermien gleiten, nachdem sie das Lumen der Drüse ausgefüllt haben, in den Zwittergang, wo sie sich das ganze Jahr hindurch sammeln. Während der Begattung gelangen diese Spermien in die Penistasche, wo sie nacheinander mehrere Spermatophoren bilden.

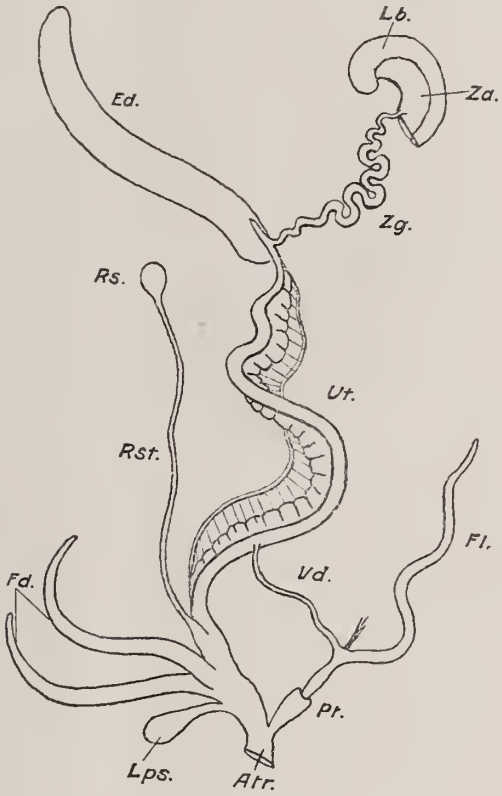
VII. Wie die Geschlechtselemente nach außen gelangen.

Bevor wir diese Frage erörtern, müssen wir kurz an den Bau des gesamten Geschlechtsapparats erinnern, um die weiteren Erscheinungen bei der Befruchtung leichter zu erklären. Zur Erleichterung geben wir eine Abbildung dieses Apparats (Textfig. 4).

Der Geschlechtsapparat besteht aus einer Zwitterdrüse (*Zd*), die in der Leber eingebettet ist, einem Zwittergang (*Zg*), einem Uterus (*Ut*),

von dessen Ende sich das Vas deferens (*Vd*) abzweigt und einem Flagellum (*Fl*), welches zusammen mit dem Vas deferens in die Penistasche (*Pt*) mündet. Ferner gehört zum Geschlechtsapparat eine Eiweißdrüse (*Ed*), ein Receptaculum seminis (*Rs*), welches die Spermien bei der Begattung aufnimmt, ein Receptaculumstiel (*Rst*) und ein Liebespfeilsack (*Lps*)

Textfig. 4.



mit seinen fingerförmigen Drüsen (*Fd*), deren Funktion bis jetzt nicht bekannt ist. Penis, Liebespfeilsack, Uterus und Receptaculumstiel münden alle in ein Atrium (*Atr*).

Der Geschlechtsapparat funktioniert nun so: Die Spermien sammeln sich im Zwittergang. Von dort gleiten sie, während der Begattung, durch den Uterus und das Vas deferens in die Penistasche. Die Spermien werden hier von einer gallertartigen Substanz, die sich im Flagellum bildet, umhüllt und so entsteht die Spermatophore, deren Form einen Abguß

des oberen Teiles der Penistasche darstellt. Die Spermatophore wird mittels des Penis bei der Begattung in das Receptaculum einer andern Schnecke überführt. Hier löst sich die Hülle der Spermatophore auf. Die Spermien werden frei und wandern zum Uterus zurück. Im obersten Teil des Uterus findet die Befruchtung der Eier statt.

Die Eier machen ihre Reifeteilungen noch im Zwittergang oder im Anfang des Uterus durch, bei *Arion empiricorum* noch in der Zwitterdrüse selbst. Die reifen Eier müssen im Anfang denselben Weg passieren wie die Spermien, um nach außen zu gelangen. Man könnte also annehmen, daß eine Selbstbefruchtung möglich ist. Doch findet eine solche direkte Selbstbefruchtung nicht statt und eine Begattung von zwei Individuen ist fast immer nötig. Man könnte ferner die Annahme machen, daß die aus einer und derselben Zwitterdrüse stammenden Eier und Spermien sich abstoßen und indifferent gegeneinander sind, wie es auch bei andern zwitterigen Tieren nachgewiesen ist, z. B. bei Tunicaten von Morgan (1905). Es gibt aber Beobachtungen, welche zeigen, daß auch bei Pulmonaten eine Selbstbefruchtung möglich ist. So hat Ziegeler (1908) beobachtet, wie eine isolierte *Limnaea stagnalis* Eier abgelegt hat, von welchen später junge Schnecken ausschlüpften. Eine von diesen isoliert hat ebenso Eier abgelegt. Es gibt in der Literatur zahlreiche solche Mitteilungen, auch über andre Arten, z. B. *Planorbis* (Chadwick, 1903). Sie zeigen, daß wirklich eine Selbstbefruchtung bei den genannten Gattungen möglich ist, und daß die in demselben Tier entstandenen Spermien und Eier gegeneinander nicht indifferent sind. Wir müssen aber gleich bemerken, daß alle diese Angaben sich auf die Basommatophoren Pulmonaten erstrecken, also auf solche, wo die beiden Geschlechtsöffnungen nicht gemeinsam wie bei Stylommatophoren *Helix* und *Arion*, sondern getrennt nach außen münden. Der letzte Umstand erlaubt eine Selbstbegattung und wirklich ist eine solche bei Basommatophoren Pulmonaten beobachtet. K. v. Baer beobachtete (Simroth, 1900) »wie eine *Limnaea* den Penis in die eigne Vulva einführte«, also eine Selbstbegattung. Solche Selbstbegattung ist bei Stylommatophoren Pulmonaten nie beobachtet und auch die Beschaffenheit des Penis und die Mündung desselben vor dem Uterus erlaubt sie nicht.

Um die Erscheinungen der Befruchtung und hauptsächlich die Unmöglichkeit einer direkten Selbstbefruchtung zu erklären, habe ich besondere Aufmerksamkeit auf die Zwitterdrüse und den gesamten Geschlechtsapparat während und nach der Begattung bis zur Eiablage gerichtet.

Wir haben schon gesehen, daß gleich vor der Begattung der Zwitter-

gang dicht mit Spermien erfüllt ist. In dieser Zeit sind auch die andern Teile des Geschlechtsapparats aufgeschwollen und hauptsächlich die Penistasche und das Flagellum. In solchem Zustande befindet sich eine Schnecke, welche einen Partner zur Begattung sucht. Ist ein solcher gefunden, beginnt das sogenannte Liebesspiel, das ausführlich von Meisenheimer (1907) beschrieben worden ist. Während des Liebesspiels gelangen die Spermien aus dem Zwittergang in die Penistasche, wo sich die Spermatophoren bilden. Bei der Begattung wird die Spermatophore mittels des Penis in das Receptaculum seminis des Partners übergeführt.

Eine Schnecke kann mehrere Spermatophoren ausbilden und auch mehrere Male nacheinander in Begattung treten. Eine neue Spermatophore kann in einigen Stunden gebildet werden. Ich habe z. B. beobachtet, wie eine *Helix arbustorum*, die zusammen mit 40 andern Exemplaren gezüchtet war, am 20. Mai 1911, zweimal die Begattung ausgeführt hat, am 21. Mai noch einmal und am 22. Mai von neuem mit einem von den ersten Exemplaren. Auch andre Forscher haben sehr oft mehrmalige Begattung bei *Helix pomatia* beobachtet. Meisenheimer (1907) hat auch mehrere Spermatophoren im Receptaculum seminis gefunden, was auch zeigt, daß die Begattung mehrere Male erfolgt. Wir haben schon erklärt, daß die Fähigkeit der wenig beweglichen Schnecke, möglichst viele Individuen in kurzer Zeit zu befruchten, in Zusammenhang mit der Erhaltung der Art steht.

Nach der letzten Begattung ruht die Schnecke einige Tage aus (10—15), um dann das Nest für ihre Eier zu graben. Während dieser Zeit und auch schon gleich während der Begattung erfolgen in der Zwitterdrüse sehr wichtige und eigenartige Veränderungen, welche eine klare Vorstellung davon geben, warum die aus derselben Zwitterdrüse stammenden Spermien und Eier sich nicht miteinander vereinigen. Wenn man die Präparate, welche von der Zwitterdrüse nach dem Liebesspiel bis zum Eiablegen gewonnen waren, beobachtet, so bemerkt man leicht starke degenerative Veränderungen in dieser Drüse. Schon während des Liebesspiels beginnt das Keimepithel der Drüse zu degenerieren. Das Plasma dieses Epithels beginnt allmählich zu zerfallen, dann zerfallen auch die Kerne und während des Eiablegens ist das Keimepithel vollständig zerstört. Man findet in solchem Zustande, der auf Fig. 10, Taf. XXX, abgebildet ist, kein Keimepithel mehr, es zerfällt vollständig in kleine gelbe Körnchen, welche sich mit Osmiumsäure schwarz färben und wahrscheinlich Fetttröpfchen sind.

Diese Degeneration hat wichtige Veränderungen zur Folge. Gleich nach dem Auftreten der Degeneration hört die Bildung neuer Geschlechtselemente auf, weil es kein Epithel mehr gibt, von dem sie sich bilden könnten.

Nach der Zerstörung des Keimepithels ergreift die Degeneration auch die noch in der Zwitterdrüse sich befindenden Spermatogonien und Spermatocyten. Die Spermien, welche sich in diesem Moment noch in der Drüse befinden, gelangen noch durch den Zwittergang in die Penistasche, wo sie eine neue Spermatophore bilden können. Neue Spermatogonien entwickeln sich aber nicht mehr.

In dieser Weise wird die Zwitterdrüse, der Zwittergang und der Uterus von den männlichen Geschlechtselementen befreit und wenn sich noch einige dort befinden, sind sie immer in Degeneration begriffen.

Gleichzeitig aber mit der vollständigen Zerstörung des Keimepithels wird auch die Follikelwand, welche die Eier umschließt, und welche dieselbe Beschaffenheit wie das Keimepithel hat, zerstört, so daß die Eier frei ins Lumen der Zwitterdrüse zu liegen kommen, ohne aber von der Degeneration angegriffen zu werden. Mit viel Nährmaterial versorgt, welches von der Degeneration des Keimepithels und der männlichen Geschlechtszellen entsteht, nehmen die Ovocyten stark an Größe zu und durch den Zwittergang, der schon frei von Spermien ist, gelangen sie in den Uterus. Auf ihrem Wege machen sie die Reifeteilungen durch.

Die Befreiung der ausgewachsenen Ovocyten von ihrer Follikelhülle ist von großer Bedeutung für solche Arten, wo die Reifeteilungen in der Zwitterdrüse selbst stattfinden, z. B. bei *Arion empiricorum*. In diesem Falle ist die Follikelwand die einzige Scheidewand zwischen den reifen Spermien und reifen Eiern. Wenn diese Wand nicht existierte, könnte eine Vereinigung der Spermien mit den aus derselben Zwitterdrüse stammenden Eiern ganz gut möglich scheinen. Eine solche Vereinigung findet aber nicht statt, weil erst nach der Vernichtung der männlichen Geschlechtselemente durch die Degeneration auch die Eier von der Follikelwand befreit werden.

Man kann auf einer Serie von Präparaten, die von einer Zwitterdrüse in der Zeit zwischen Begattung und Eiablage gewonnen sind, Schritt für Schritt die Degeneration verfolgen und auch alle Erscheinungen, welche diese Degeneration begleiten, bis zur vollen Zerstörung des Keimepithels und zum Freiwerden der Eier.

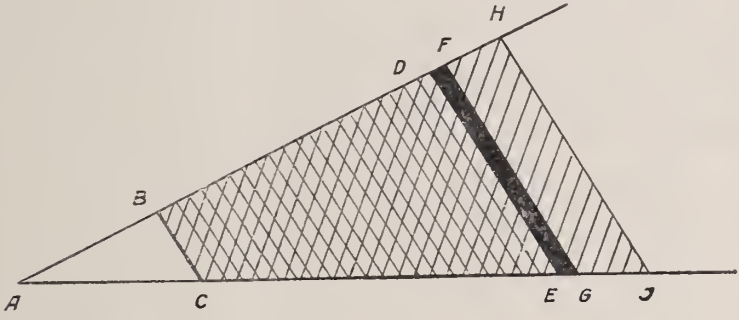
Gleichzeitig mit dem Vernichten der männlichen Geschlechtselemente in der Zwitterdrüse, gleiten die im Zwittergang angesammelten Spermien in das Vas deferens und die Penistasche, so daß auch der Uterus und der Zwittergang frei von Spermien bleiben. In dieser Zeit ist auch die Begattung vollendet und das Receptaculum seminis enthält schon eine oder mehrere Spermatophoren. Sie lösen sich auf, und die Spermien legen den freien Weg zu der Zwitterdrüse zurück. Auf ihrem Wege begegnen

die Spermien den reifen Eiern und befruchten sie. Diese Befruchtung erfolgt bei *Helix arbustorum* im obersten Teil des Uterus, bei *Arion empiricorum* auch in der Zwitterdrüse selbst.

Wenn man für die Stylommatophoren Pulmonaten annimmt, daß eine Selbstbegattung möglich ist, wie es bei Basommatophoren der Fall ist, d. h. wenn man annimmt, daß die Schnecke mittels des Penis die Spermatophore in ihr eigenes Receptaculum seminis überführen kann, dann ist bei demselben Verlauf der Degenerationserscheinungen eine Selbstbefruchtung ganz gut möglich. Bei den Stylommatophoren *Helix* und *Arion* kann eine Selbstbegattung nicht stattfinden, darum ist auch eine Selbstbefruchtung nicht möglich; bei den Basommatophoren aber erlaubt die getrennte Mündung der Geschlechtsöffnungen eine Selbstbegattung und darum ist eine Selbstbefruchtung möglich.

Die Degeneration der männlichen Geschlechtselemente ist auch von andern Forschern gesehen worden und namentlich von solchen, welche

Textfig. 5.



sich mit der Ovogenese beschäftigten; niemand konnte ihr aber eine besondere Wichtigkeit zuschreiben. Nur Pere (1889) hat die Vermutung ausgesprochen, daß diese Degeneration in Zusammenhang mit dem Austreten der Eier aus der Zwitterdrüse steht.

Man sieht aus diesen Untersuchungen, daß *Helix arbustorum* nicht so einfach protandrisch ist wie es bei vielen anderen Tieren (*Ophryotrocha*, *Tyrrhena*, *Hesione*, *Myzostoma*) der Fall ist, wo sich wirklich zuerst die männlichen und dann die weiblichen Geschlechtselemente entwickeln und wo die Geschlechtsdrüse wirklich zuerst als männliches Keimorgan und dann als weibliches funktioniert. In unserem Falle entstehen und entwickeln sich die beiden Geschlechtselemente gleichzeitig und nur zum

Schluß ist es die Degeneration, welche die männlichen Geschlechtselemente vernichtet und dadurch eine direkte Selbstbefruchtung unmöglich macht.

Schematisch können wir die Veränderungen der Zwitterdrüse von *Helix arbustorum* folgendermaßen darstellen (Textfig. 5): Das Dreieck *AHJ* stellt die Entwicklung dieser Drüse durch das ganze Bestehen ihrer Funktion dar. Die Zone *ABC* ist der indifferente Zustand bis zur Ausbildung des Keimepithels. *CBDE* die Zone der Differenzierung der männlichen und weiblichen Geschlechtszellen. *EDFG* die Degeneration der männlichen Geschlechtszellen. *GFHJ* die Zone des alleinigen Überbleibens der weiblichen Geschlechtszellen.

Bei solchen Arten, welche mehrere Jahre leben und welche jedes Jahr einmal Eier zu legen fähig sind, wird das Keimepithel wahrscheinlich jedes Jahr wieder regeneriert.

München, den 1. Juli 1911.

Literaturverzeichnis.

Ancel, P. 1902. Histogénèse et structure de la glande hermaphrodite d'Helix pomatia. Arch. Biol. Tom. XIX.

—— 1903. Sur le déterminisme cyto-sexuel des gamètes. Arch. Zool. Expér. Tom. I.

Babor, J. 1894. Über den Cyclus der Geschlechtsentwicklung der Stylomatophoren. Verh. d. Zool. Ges. 4. Vers.

—— 1898. Ein Beitrag zur Geschlechtsmetamorphose. Verh. K. K. zool. bot. Ges. Wien.

Bergmann, W. 1903. Über das spätere Schicksal der Zwitterdrüse von Hesione sicula. Zool. Anz. Bd. XXVI.

Bloomfield, V. 1881. The Development of the Spermatozoa. Quart. Journ. Micr. Science. N. S. Vol. XXI.

Bolles Lee, A. 1895. La régression du fuseau caryocinétique. La Cellule. Tom. XI.

—— 1896. Sur le Nebenkern et sur la formation du fuseau dans les spermatocytes des Helix. Ibid. Tom. XI.

—— 1897. Les cinèses spermatogénétiques chez l'Helix pomatia. Ibid. Tom. XIII.

—— 1902. Nouvelles recherches sur le Nebenkern et la régression du fuseau caryocinétique. Ibid. Tom. XX.

—— 1904. L'évolution du spermatozoïde de l'Helix pomatia. Ibid. Tom. XXI.

Braem, F. 1894. Zur Entwicklungsgeschichte von Ophryotrocha puerilis. Zeitschr. wiss. Zool. Bd. LVII.

Brock, W. 1886. Die Entwicklung des Geschlechtsapparates der Stylomatophoren Pulmonaten nebst Bemerkungen über die Anatomie und Entwicklung einiger andrer Organsysteme. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XLIV.

Bruyne. 1903. Contribution à l'étude de la cellule polliculaire des Glandes génitales des Gastéropodes. Bull. Acad. Sc. Belg.

Byrnes. 1899. The maturation and fertilization of the egg of Limax agrestis. Journ. of Morph. Vol. XVI.

Chadwick, W. 1903. Self-Fecundation in Planorbis vortex. Journ. Conch. London. Vol. X.

Duval, M. 1878. Recherches sur la spermiogénèse étudiée chez quelques Gastéropodes. Rev. Sc. Nat. de E. Dubreuil. Tom. VII.

Eisig, H. 1869. Beiträge zur Anatomie und Entwicklung der Geschlechtsorgane von Lymnaeus. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XIX.

Fauré-Frémiet. 1910. Etude sur les mitochondries des Protozoaires et des cellules sexuelles. Arch. d'Anat. microsc. Tom. XI.

Garnault, P. 1888—89. Sur les phénomènes de la fécondation chez l'Helix aspersa et l'Arion empiricorum. Zool. Anz. Bd. XI und XII.

Godlewski, E. 1897. Über die Umwandlung der Spermatiden in Spermatozoen bei Helix pomatia. Bull. Acad. Cracovie.

Goldschmidt, R. 1910. Kleine Beobachtungen und Ideen zur Zellenlehre. Arch. Zellforsch. Bd. VI. Hft. 1.

Henschen, F. 1903. Zur Struktur der Eizelle gewisser Crustaceen und Gastropoden. Anat. Anz. Bd. XXIV.

Ihering, von. 1875. Über die Entwicklungsgeschichte von Helix. Jenaische Zeitschr. f. Naturwiss. Bd. XI.

Jourdain, M. 1880. Sur la conformation de l'appareil de génération de l'Helix aspersa dans le jeune âge. Rev. Sc. Nat. Montpellier. Tom. II.

Kleinert, M. 1909. Die Spermatogenese von Helix (Tachea) nemoralis und hortensis. Jenaische Zeitschr. f. Naturwiss. Bd. XLV.

Korff, K. v. 1899. Zur Histogenese der Spermien von Helix pomatia. Arch. mikr. Anat. Bd. LIV.

Korschelt, E. 1894. Über Ophryotrocha puerilis und die polytrochen Larven eines anderen Anneliden. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LVII.

Lams, H. 1910. Recherches sur l'œuf d'Arion empiricorum. Mémoires publiés par la classe des Sc. de l'Acad. de Belgique. Tom. II.

Legendre, R. 1908. A propos des mitochondries des cellules nerveuses d'Helix. C. R. Ass. Anat. 10. Réun. p. 86—91.

Linville, H. 1900. Maturation and Fertilization in Pulmonate Gasteropods. Bull. of the museum of comp. zool. at Harvard Col. Vol. XXXV.

Mark, E. 1881. Maturation, fecundation and segmentation of Limax campestris. Bull. of the mus. of comp. zool. at Harvard Col. Vol. VI. Nr. 12.

Meisenheimer, J. 1907. Biologie, Morphologie und Physiologie des Begattungsvorganges und der Eiablage von Helix pomatia. Zool. Jahrb. Abt. Syst. Bd. XXV.

Mirabella, R. 1903. Osservazioni sull' accrescimento degli oociti di Helix aspersa Monit. z. Ital. Anno 13.

Montgomery, Th. 1895. Stichostemma Eilhardi usw. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LIX.

Morgan, T. 1905. Some further experiments on self-fertilization in Ciona. Biol. Bull. Woods Hall. Vol. VIII.

Murray, J. 1898. Contribution to a knowledge of the Nebenkern in the Spermatogenesis of Pulmonata — Helix und Arion. Zool. Jahrb. Bd. XI.

Nusbaum, J. 1899. Die Entstehung des Spermatozoons aus der Spermatide bei Helix lutescens. Anat. Anz. Bd. XVI.

Obst, P. 1899. Untersuchungen über das Verhalten der Nucleolen bei der Eibildung einiger Mollusken und Arachnoiden. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXVI.

Platner, G. 1885. Über die Spermatogenese bei den Pulmonaten. Arch. mikr. Anat. Bd. XXV.

—— 1886a. Zur Bildung der Geschlechtsprodukte bei den Pulmonaten. Ibid. Bd. XXVI.

—— 1886b. Über die Befruchtung bei Arion empiricorum. Ibid. Bd. XXVII.

—— 1889. Beiträge zur Kenntnis der Zelle und ihrer Teilungserscheinungen. Ibid. Bd. XXXIII.

Pérez, J. 1889. Sur la descente des ovules dans le canal de la glande hermaphrodite chez les Helices. C. R. Acad. Sc. Paris. Tom. CVIII.

Popoff, M. 1907. Eibildung bei Paludina vivipara und Chromidien bei Paludina und Helix. Arch. mikr. Anat. Bd. LXX.

Prenant, A. 1887. Observations cytologiques sur les éléments séminaux des Gastéropodes pulmonés. La Cellule. Tom. IV.

Prowazek, S. 1901. Spermatologische Studien. 1. Spermatogenese der Weinbergschnecke. Arb. Zool. Inst. Wien. Bd. XIII.

Rabl, C. 1875. Die Ontogenese der Süßwasser-Pulmonaten. Jenaische Zeitschr. f. Naturwiss.

vom Rath, O. 1895. Neue Beiträge zur Frage der Chromatinreduktion in der Samen- und Eireife. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XLIV.

Rouzaud, H. 1885. Recherches sur le développement des organes génitaux de quelques Gastéropodes hermaphrodites. Travaux Lab. Zool. Montpellier.

Schapiro, J. 1902. Über Ursache und Zweck des Hermaphroditismus. Biol. Centr. Bd. XXII.

Schiemenz, P. 1888. Die Entwicklung der Genitalorgane bei den Gasteropoden. Biol. Centralbl. Bd. VII.

Schneider, C. 1908. Histologisches Praktikum. Jena 1908.

Simroth, H. 1887. Über die Genitalentwicklung der Pulmonaten usw. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XLV.

—— 1900. Über Selbstbefruchtung bei Lungenschnecken. Verh. D. Zool. Ges. Bd. X.

Soos, L. 1910. Spermiogenesis of Helix arbustorum. Annales Musei Nationalis Hungarici. Vol. VIII.

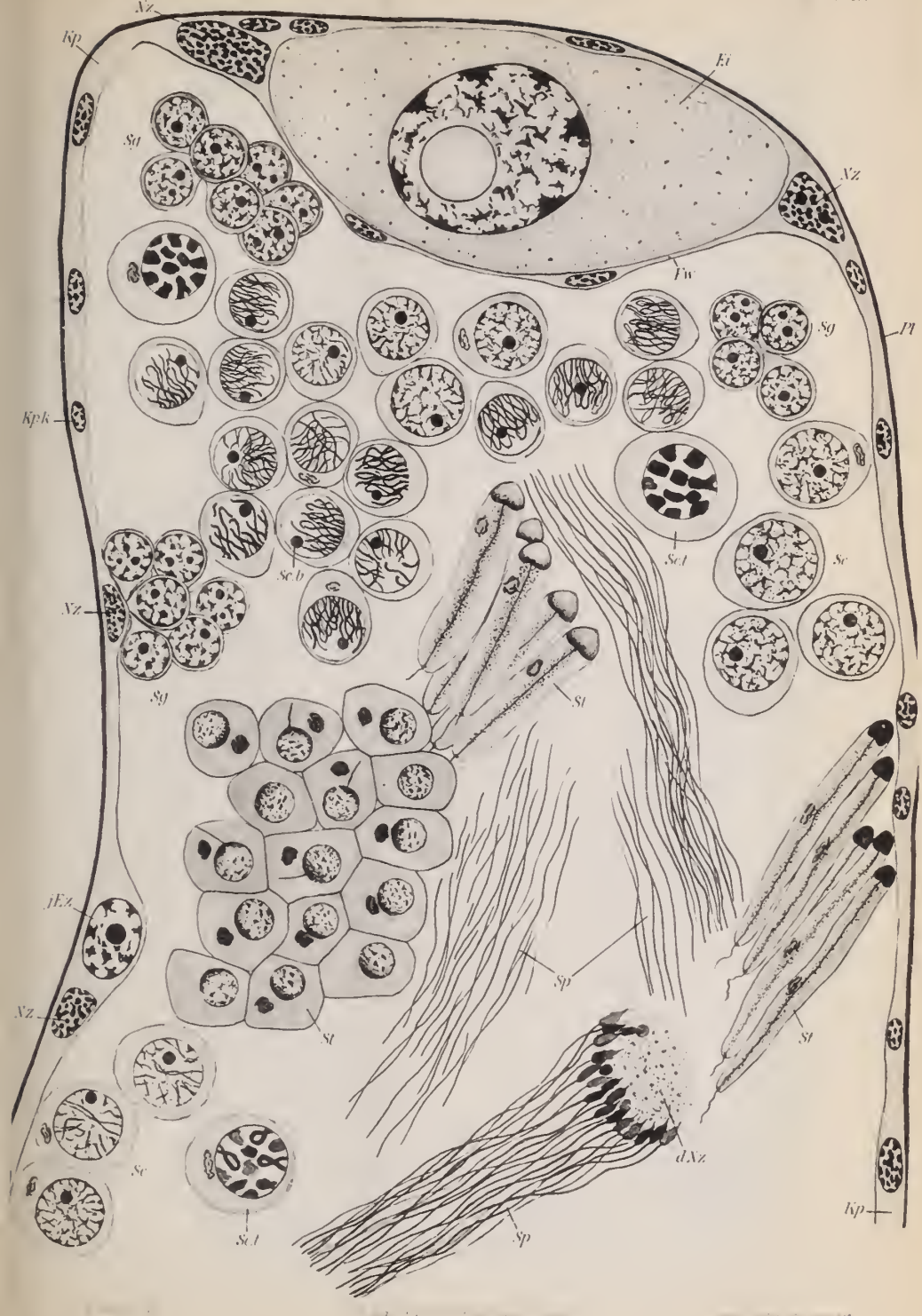
Tschassownikow, S. 1905. Über indirekte Zellteilung bei der Spermatogenese von Helix pomatia. Anat. Hefte. Nr. 29.

Washburn, C. 1894. Oökinesis in Limax maximus. The American Naturalist. Vol. XXVIII.

Wheehler, W. 1897. The sexual phases of Myzostoma. Mitt. Zool. Stat. Neapel. Bd. XII.

Ziegeler. 1908. Selbstbefruchtung bei Limnaea stagnalis. Wochenschr. f. Aquar. u. Terrar. Jahrg. V. S. 189.

Zimmermann, K. 1891. Über den Kernteilungsmodus bei der Spermatogenese von Helix pomatia. Verh. Anat. Ges.


Nz
Kp
Ei
St
Nz
Fw
Sg
Pl
Kpk
Sc.b
Sc.t
Sc
Nz
Sg
St
jEz
Nz
Sp
St
St
dNz
Sc
Sc.t
Sp
Kp

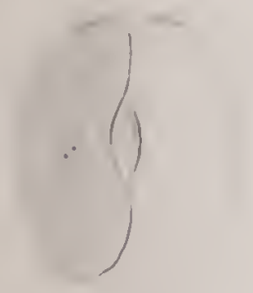


Fig. 1

Fig. 2

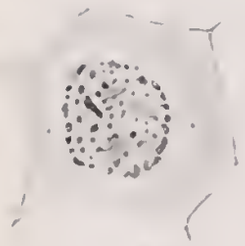


Fig. 3

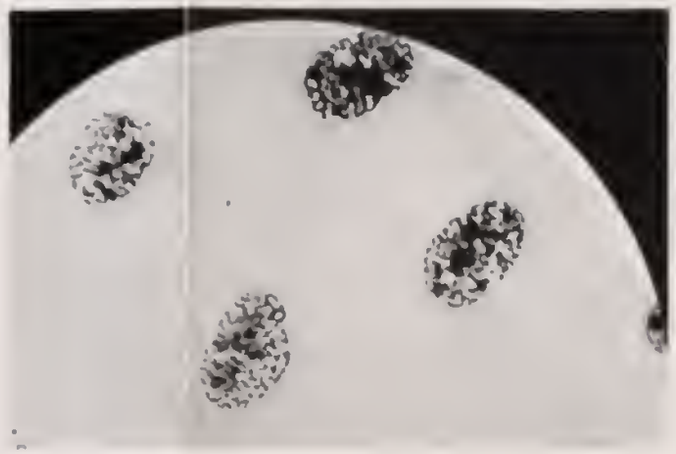


Fig. 13

Fig. 4

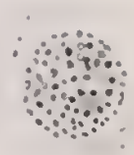


Fig. 5

Fig. 6

Fig. 9

Fig. 13

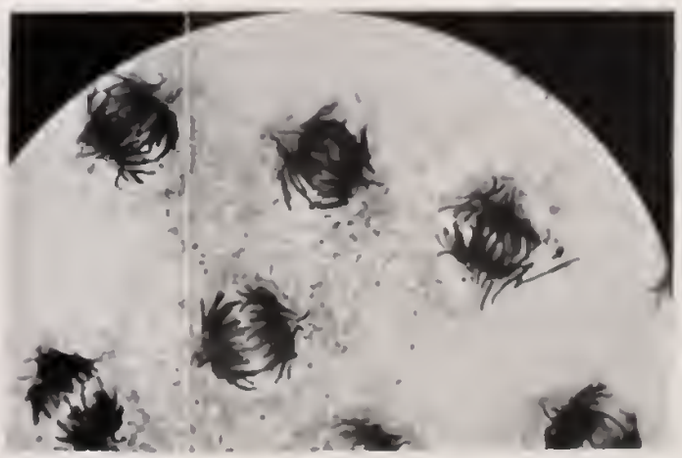


Fig. 14

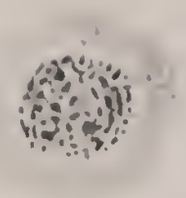


Fig. 7

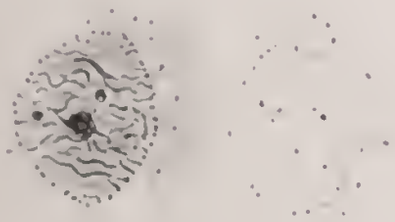


Fig. 8

Fig. 10

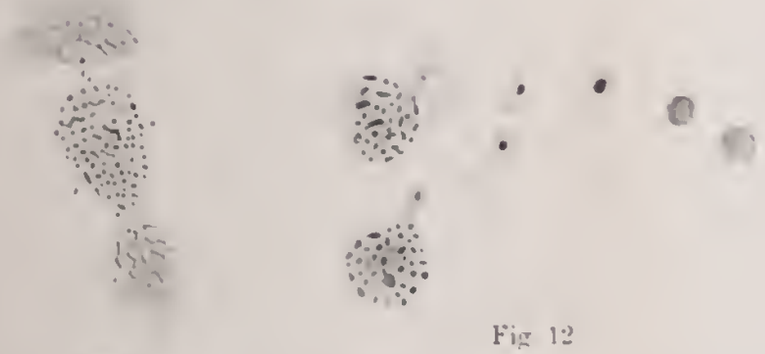


Fig. 11 Fig. 12

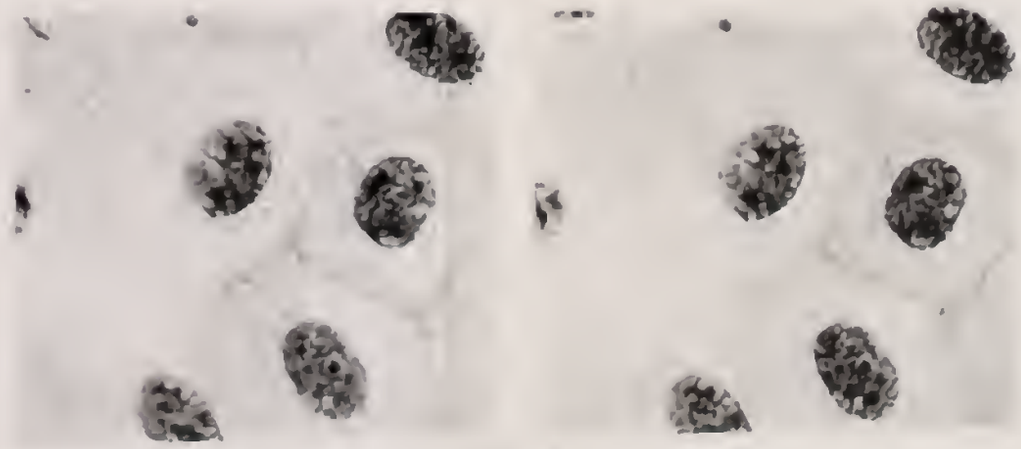


Fig. 15

Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig.

Erklärung der Abbildungen.

Tafel XXIX.

Ende eines Acinus einer vollentwickelten Zwitterdrüse. Zeiss, Obj. D, Oc. 6. Nach drei aufeinanderfolgenden Schnitten kombiniert. Färbung mit Eisenhämatoxylin nach Heidenhain. Fixierung nach Zenker.

dNz = degenerierte Nährzelle;
Ei = Eizelle;
Fw = Follikelwand;
Kp = Keimepithel;
Kpk = Keimepithelkern;
Nz = Nährzelle;
Pl = Nährzelle;
Pl = Pleura;
Scb = Spermatocyten im Bukettstadium;
Sct = Spermatocyten in Tetradenbildung;
Sg = Spermatogonien;
Sp = Spermien;
St = Spermatiden.

Tafel XXX.

Sämtliche Figuren sind nach Präparaten gezeichnet, die mit Zenkerscher Flüssigkeit fixiert und mit Eisenhämatoxylin nach Heidenhain gefärbt waren. Fig. 1—7 mit Zeiss, Ölimm. 1/12, Komp. Oc. 8; Fig. 8 u. 9 — Obj. D, Oc. 6; Fig. 10 — Obj. C, Oc. 6.

Fig. 1, 4, 5, 6. Umbildung des indifferenten Keimkernes (*Kpk.*) im Kern der indifferenten Geschlechtszelle (*igz*).

Fig. 2. Die aus dem Keimepithel herausgefallene indifferente Geschlechtszelle, jetzt Spermatogonie I. Ordnung genannt.

Fig. 3. Spermatogonien II. Ordnung, entstanden aus der Teilung der Spermatogonie I. Ordnung.

Fig. 7, 8, 9. Weitere Umbildungen der Ovocyte. Bildung der Follikelwand (*Fw*). *Nz* = Nährzelle.

Fig. 10. Degeneration der männlichen Geschlechtselemente vor der Eiablage. Das Keimepithel ist vollständig zerstört.

Studien über die Gestalt der Zelle.

III. Untersuchungen über die Kontraktilität des Vorticellinenstiels.

Von

N. K. Koltzoff.

Mit 12 Textfiguren.

Inhalt.

Seite

Einleitung 345
Erster Teil. Statik des Vorticellinenstiels 347
Kapitel 1. Bau 347
§ 1. Einleitende Bemerkungen 347
§ 2. Äußere Hülle 349
§ 3. Innere Hülle 350
§ 4. Kinoplasma und Thekoplasma 351
§ 5. Skeletfibrillen 354
Kapitel 2. Gleichgewichtsbedingungen des Vorticellinenstiels 357
Zweiter Teil. Dynamik des Vorticellinenstiels 360
Kapitel 1. Rolle des osmotischen Druckes 360
Kapitel 2. Rolle der chemischen Zusammensetzung des Seewassers . . . 367
§ 1. Einleitende Bemerkungen. 367
§ 2. Zerfall des Kinoplasmas in Tropfen 371
a) Erste Serie von Experimenten: Wirkung der dem Seewasser isosmotischen Lösungen von NaCl 373
b) Zweite Serie von Experimenten: Wirkung der Zusätze von Seewasser zu NaCl-Lösungen 377
c) Dritte Serie von Experimenten: Wirkung der Ca-Ionen in NaCl-Lösungen 379
d) Vierte Serie von Experimenten: Wirkung der Mg-Ionen in NaCl-Lösungen 383
e) Fünfte Serie von Experimenten: Wirkung der Sr-, Ba- und Hg-Ionen in NaCl-Lösungen 385
f) Sechste Serie von Experimenten: Wirkung der K-Ionen in NaCl-Lösungen 388

Seite
g) Siebente Serie von Experimenten: Wirkung von dem Seewasser isosmotischen KCl-Lösungen, reiner und mit Zusätzen von Ca und Mg 389
h) Achte Serie von Experimenten: Wirkung der dem Seewasser isosmotischen Lösungen von $CaCl_2$ und $MgCl_2$ 391
i) Neunte Serie von Experimenten: Bedeutung der Anionen 394
k) Ergebnisse 397
§ 3. Wirkung der Ca- und Mg-Ionen auf die Kontraktilität des Stieles und der Wimpern 401
§ 4. Das Problem der »physiologischen« Lösung und die Analyse von Kochsalz nach der biologischen Methode 411
Schluß 419

Einleitung.

Im ersten Teil meiner »Studien über die Gestalt der Zelle«[1]) wurde von mir folgendes cytologisches Problem erörtert: auf welche Weise bestehen in der Zelle die Merkmale des flüssigen und festen Aggregatzustandes nebeneinander, d. h. wie ist es möglich, daß bei den zweifellos flüssigen Eigenschaften des Protoplasmas die Zellen eine konstante, häufig sogar äußerst komplizierte äußere Form aufweisen? Die von mir vertretene Lösung dieser Frage ist folgende: eine jede Zelle oder ein jeder Teil einer Zelle, deren äußere Gestalt von der Kugelform abweicht, besitzt ein festes Skelet, welches dem flüssigen Protoplasma eine bestimmte äußere Form verleiht. Das Zellskelet kann durch eine ununterbrochene Membran, wie bei den Pflanzenzellen, oder ein inneres festes Gerüst (viele Protozoen) vertreten sein, oder dasselbe baut sich aus elastischen dehnbaren Fasern auf. Im Kopf verschiedener Spermien[2]) stieß ich auf ein Objekt, an dem sich die Bedeutung der Fasern als Skelet ohne jegliche Beziehung derselben zur Kontraktilität der völlig unbeweglichen Spermienköpfe besonders überzeugend nachweisen ließ. Ich warnte vor dem Bestreben gewisser Cytologen, eine jede Faser als kontraktiles Element zu deuten und stellte die Behauptung auf, eine jede kontraktile Faser der Zelle müsse ihrerseits einen Doppelcharakter zeigen und sich aus flüssigem Protoplasma und einem festen Skelet aufbauen. Um meine Idee zu veranschaulichen, suchte ich an dem Beispiel des kontraktilen Vorticellenstiels[3]) zu zeigen, auf welche Weise wir uns den Bau und die Funktionen der wirklich kontraktilen Zellfibrillen zu denken haben.

[1]) Archiv für mikr. Anatomie. Bd. LXVII. 1906.
[2]) Archiv für Zellforschung. Bd. II. 1908.
[3]) Archiv für mikr. Anatomie. Bd. LXVII. S. 539 ff.

Ich bediente mich dabei jedoch nicht eigner Untersuchungen, sondern der ausführlichsten in der Literatur vorhandenen Daten von G. Entz[1]).

Nachdem ich in meinen Untersuchungen, die hauptsächlich den Bau der Spermien behandelten, nachgewiesen hatte, daß den Zellfibrillen in gewissen Fällen eine ausschließlich formbestimmende Bedeutung als Zellskelet zukommt, und nachdem eben dieses Prinzip in einer ganzen Reihe ausgezeichneter Untersuchungen Goldschmidts[2]) und dessen Schüler zur Erklärung des Skelets der Muskel-, Nerven- und Flimmerzellen Anwendung gefunden hatte, beschloß ich meine Aufmerksamkeit nun einem komplizierteren Falle des Baues kontraktiler Fibrillen zuzuwenden und als solchen wählte ich ein Objekt, das mir schon früher auf Grund fremder Untersuchungen zur Veranschaulichung meiner Theorie gedient hatte. Beim selbständigen Studium sah ich mich genötigt die Entzsche Beschreibung der Struktur des Vorticellenstiels in gewissen Beziehungen zu ändern und infolgedessen erwies sich auch die Deutung der Funktionen desselben in mancher Hinsicht als unzulänglich. Ebenso habe ich mich von der Richtigkeit der Einwände R. Goldschmidts, der sich mit meiner damaligen Auffassung der Myoneme der Infusorien (Arch. f. Zellforsch. Bd. IV. S. 100) nicht einverstanden erklärt, überzeugen können. Doch bleibt das Grundprinzip der von mir jetzt vertretenen Deutung dasselbe: der Vorticellenstiel besteht aus flüssigem Protoplasma und einem festen Skelet; das Protoplasma kontrahiert sich, d. h. dasselbe nähert sich der für einen jeden Flüssigkeitstropfen typischen sphärischen Form, während das Skelet die äußere Form der Kontraktion bedingt.

Trotzdem die Vorticellinen hauptsächlich Süßwasserbewohner sind, so wählte ich doch als Objekt für meine Untersuchungen die marinen Formen. Hierzu veranlaßte mich die Möglichkeit, mich der von mir ausgearbeiteten Methode der Veränderung der osmotischen Druckverhältnisse zu bedienen, eine Methode, die mir bei meinen früheren Untersuchungen besonders gute Dienste zur Aufklärung des feineren Baues der Zelle geleistet hatte. Diese Methode ergab mir denn auch wirklich handgreifliche Resultate und gestattete es mir, mich der Fixierungs-, Färbe- und Schnittmethoden gänzlich zu enthalten.

---

[1]) Math. und naturwiss. Berichte aus Ungarn. Bd. X. 1893.

[2]) R. Goldschmidt. 1. Lebensgeschichte der Mastigamöben. Arch. f. Protistenkunde. Suppl. I. 1907. 2. Das Skelet der Muskelzelle von *Ascaris*. Arch. f. Zellforschung. Bd. IV. 3. Sind die Neurofibrillen das leitende Element des Nervensystems? Sitzber. Ges. Morph. und Phys. München 1910. 4. Das Nervensystem von *Ascaris*. Festschrift f. R. Hertwig. Bd. II. 1910.

Unter den marinen Vorticellinen erwies sich als das geeignetste Untersuchungsobjekt *Zoothamnium alternans*, dessen zahlreiche Kolonien ich fast täglich während meines Aufenthalts in Neapel (Januar 1910) und Villefranche s/M. (Juni—Juli 1910) erhalten konnte. Einen bevorzugten Fundort dieses hübschen und für Experimente so geeigneten Organismus bieten die Zweige der verschiedenen litoralen Bryozoen (*Bugula*, *Zoobothrium* u. a.). Außerdem wurde von mir die Struktur des Stieles von *Zoothamnium mucedo*, welches das Chitin von *Idothea* und andern Crustaceen stellenweise dicht bedeckt, ebenso wie verschiedene Arten *Vorticella* untersucht, doch eignen sich diese Formen viel weniger für die Experimentierung. Bei der weiteren Besprechung wird hauptsächlich von *Z. alternans* die Rede sein und jedesmal, wenn eine andre Form gemeint ist, werde ich dies besonders hervorheben.

Meine Beschreibung teile ich in zwei Abschnitte ein. Im ersten Teil bildet den Stoff der Besprechung der Bau und die Gleichgewichtsbedingungen des Vorticellenstiels, im zweiten eine Reihe von Experimenten, welche die Frage von den diesen Mechanismus in Bewegung setzenden Kräften im Auge haben. Der erste Teil kann auf diese Weise die Überschrift Statik, der zweite Dynamik des Vorticellinenstiels führen.

Erster Teil.

Statik des Vorticellinenstiels.

Kapitel 1. Bau.

§ 1. Die Kolonie von *Zoothamnium alternans* hat das Aussehen einer etwa 1 mm langen Feder, dessen Basalende sich der Unterlage anheftet. Der Proximalteil des Stammes besitzt keine Seitenzweige. Dieselben sitzen erst vom zweiten Drittel des Stammes an in zwei Reihen, wobei die rechten Äste mit den linken abwechseln. An den Seitenästen sitzen in zwei ebenfalls abwechselnden Reihen die Köpfe. Die Kontraktion findet in der ganzen Kolonie annähernd gleichzeitig statt, wobei sich anfangs meist erst die Köpfe der distalen Äste schließen, doch greift die Bewegung schnell, sich in proximaler Richtung fortpflanzend, auf den ganzen Stamm über. Der Hauptstamm krümmt sich wellenförmig zusammen, wobei die Wellenkämme den Abgangsstellen der Seitenäste, abwechselnd der rechten und linken Seite entsprechen. Gleichzeitig krümmt sich der Stamm spiralförmig. In gleicher Weise findet auch die Zusammenkrümmung der Seitenäste statt. Besonders ansehaulich ver-

läuft dieser Prozeß im unteren Drittel des Stammes, wo die Seitenäste die wenigen hier auftretenden wellenförmigen Falten, zuweilen einer einzigen Knickung, nicht verdunkeln; der unterste Teil des Stammes ist nicht kontraktil. Ihrer ganzen Länge nach (außer dem untersten nicht kontraktilen Abschnitt) ist die Struktur des Stammes und der Seitenäste die gleiche. Das allgemeine Schema des Baues ist folgendes:

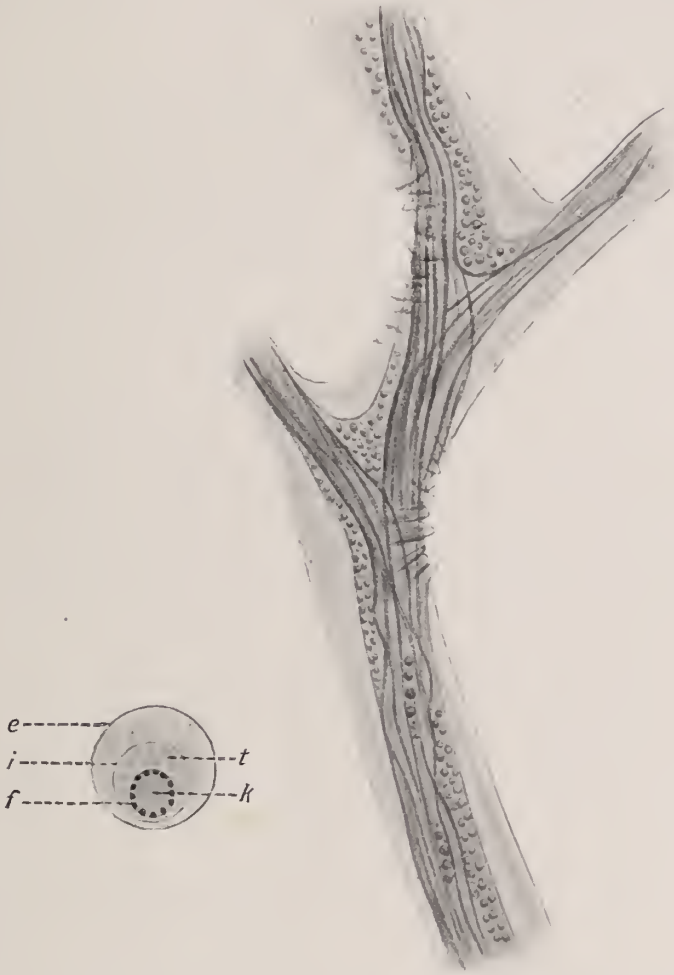
Der Stiel besteht aus einer äußeren hohlen, durchsichtigen Hülle (Fig. 1 *e*), in dessen Kanal der Achsenfaden oder das sogenannte Myonem frei hängt. Das letztere stellt ein kompliziertes Gebilde dar und besteht seinerseits aus der inneren Hülle (*i*), die von Protoplasma ausgefüllt wird; das letztere ist in zwei Schichten differenziert: die äußere körnige Plasmaschicht bezeichne ich als Thekoplasma (*t*), den stark lichtbrechenden Achsialstrang als Kinoplasma (*k*). An der Grenze zwischen Theko- und Kinoplasma fassen feine Längsfibrillen (*f*) Stellung. Die beiden Hüllen, die äußere und innere, bilden zusammen mit den Fibrillen das feste Skelet, während das Theko- und Kinoplasma sich im flüssigen Aggregatzustande befinden. Weiter unten, bei Erörterung dieser fünf Strukturelemente des Stieles, werden wir den Nachweis dieser Behauptungen führen.

§ 2. Die äußere Hülle stellt eine, augenscheinlich als cuticuläres Excret des Protoplasmas entstehende dünnwandige Röhre dar, die nur im Stiel auftritt und in keinerlei Beziehung zu der die äußerste Schicht des Kopfes bildenden Pellicula steht. Bei den Vorticellinen mit nicht kontraktilem Stiel (z. B. *Epistylis*) entspricht der letztere in toto der äußeren Hülle von *Zoothamnium* u. a. In chemischer Beziehung ist der die Hülle bildende Stoff außerordentlich resistent: derselbe ist weder in starken Laugelösungen (10% und 30% KOH), noch in rauchenden mineralischen Säuren (H_4SO_2, HCl, HNO_3) in der Zeit von $^1/_2$ bis 1 Stunde löslich. Der postmortalen Fäulnis und Zerfall widersteht von allen Bestandteilen die äußere Hülle am längsten. Wahrscheinlich gehört der die Hülle bildende Stoff seiner chemischen Beschaffenheit nach zu der Gruppe der Albuminoide oder Albumoide, aus denen sich die meisten an der Bildung des Zellskelets teilnehmenden Stoffe zusammensetzen (Kollagen. Elastin, Keratin, Plastin, Zentralin, Reticulin usw.).

Seinem physikalischen Charakter nach stellt die äußere Hülle augenscheinlich einen festen Körper mit bestimmter Form dar. Im natürlichen Zustande zeigt dieselbe die Gestalt einer geraden cylindrischen Röhre. Wenn sie während der Kontraktion des Stieles eine mehr oder weniger gekrümmte Spiralform aufweist, so ist dies eine, wie wir weiter unten nachweisen werden, durch die Kontraktion des Myonems veranlaßte gezwungene Stellung. Sobald die Einwirkung des letzteren aufgehoben wird, streckt

sich die äußere Hülle aus und kehrt dank ihrer Elastizität in ihren früheren Zustand zurück. Bei Zerstörung des Myonems streckt sich die äußere

Fig. 1.



Der untere Teil des Hauptstammes von *Zoothamnium alternans* mit zwei Nebenästen. e = äußere Hülle; i = innere Hülle; t = Thekoplasma; k = Kinoplasma; f = Skeletfibrillen.

Hülle endgültig gerade und bewahrt lange Zeit über diesen Zustand unverändert. Die feste Wandung der äußeren Hülle nimmt nur einen geringen Teil des Raumes zwischen dem äußeren Umriß des Stieles und dem Myonem ein. Dies wird durch zweierlei Tatsachen bestätigt. Erstens

verändert bei der Kontraktion des Vorticellenstiels das Myonem ungehindert seine Stellung innerhalb der Höhlung der äußeren Hülle und liegt an den Biegungen der Oberfläche beinahe ganz an. Zweitens bildet die äußere Hülle an den stärktsen Biegungsstellen während der Kontraktion des Stieles tiefe Falten, deren Dimensionen nicht mit der Vorstellung von einer auch nur einigermaßen bedeutenden Mächtigkeit der Hüllenwandungen in Einklang steht (Fig. 1).

Was die feinere Struktur der äußeren Hülle anbetrifft, so erscheint dieselbe in einigen Fällen als völlig homogen und durchsichtig. Unter gewissen Bedingungen gibt sich jedoch in der Hülle bei verschiedenen Vorticellinen eine Längsstreifung und bisweilen auch eine feine, von der oben erwähnten Faltung verschiedene Ringelung zu erkennen. Ich verfüge über keinerlei Daten, die mir gestatten würden, diese Längsstreifung und Querstriehelung als Ausdruek einer verborgenen Wabenstruktur zu deuten.

Wodurch wird nun der Zwisehenraum zwisehen der äußeren Hülle und dem Myonem ausgefüllt? Jedenfalls muß eine Flüssigkeit vorliegen, da sieh das Myonem in diesem Raum frei bewegt. Gewisse Autoren bezeichnen diese Flüssigkeit als Marksubstanz des Stieles, während sie die äußere Hülle als Rindensubstanz ansprechen. Doeh scheint es mir bedeutend wahrscheinlicher, daß der Zwischenraum zwischen der äußeren Hülle und dem Myonem einfach von Seewasser ausgefüllt wird. Bei Veränderungen des osmotischen Druckes im umgebenden Seewasser nämlich, ebenso wie bei Veränderung der ehemischen Zusammensetzung desselben erleidet die äußere Hülle keinerlei Umwandlungen (z. B. Schrumpfung oder Quellung unabhängig vom Zustand des Myonems). Als das natürlichste erscheint mir deshalb die Voraussetzung, daß die äußere Hülle sowohl dem Wasser, als den in demselben gelösten mineralisehen Salzen bzw. Ionen, freien Durehtritt gewährt und in dieser Hinsicht durchaus mit der Cellulosenmembran der Pflanzenzellen übereinstimmt. Diese Voraussetzung erscheint um so wahrscheinlieher, wenn wir in Betracht ziehen, daß die Hülle morphologiseh augenscheinlich mit den »Chitin«-beehern übereinstimmen, in welche sieh die den gestielten Vorticellinen nahe stehenden Cothurnia zurückziehen können; in die Höhlung dieser Becher hat aber das Seewasser freien Zutritt.

§ 3. Die innere Hülle oder Hülle des Myonems spielt in bezug auf die Plasmateile des Myonems dieselbe Rolle wie die Pellicula in bezug zum Protoplasma des Kopfes. Ebenso wie die Pellicula schmiegt sich auch die Hülle des Myonems dem Protoplasma innig an und dehnt sich bzw. komprimiert sich in hyper- und hypotonischen Lösungen zusammen

mit derselben, wobei sie sich in letzterem Falle zusammenfaltet. Doch wie in gewissen Fällen, z. B. unter dem Einfluß von Saponin, sich die Pellicula als Membran vom Protoplasmakörper abheben kann (von Pravazek), so kann auch die Hülle des Myonems sich besonders anschaulich offenbaren, wenn deren protoplasmatischer Inhalt ausfließt oder in Tropfen zerfällt, wie dies weiter unten näher zur Besprechung gelangen soll (vgl. Fig. 2*a*, 3, 4*a*). In beiden Fällen ist dies jedoch schon eine postmortale Erscheinung, die durch den Verlust der für die lebende Pellicula und Myonemhülle bezeichnende Semipermeabilität eingeleitet wird.

Bei der erwähnten Abhebung der inneren Hülle tritt der Charakter derselben als festes Skeletgebilde von bestimmter Form deutlich zutage. Im natürlichen Zustande stellt dieselbe eine ebensolche gerade cylindrische Röhre wie die äußere Hülle dar, nur übertrifft sie die letztere ein wenig an Länge. Die Folge eines solchen Längenunterschieds ist, daß bei völlig ausgestrecktem Stiel die innere Hülle meistens nicht eine gerade Stellung längs der Achse der äußeren einnimmt, sondern deutlich spiralig gewunden erscheint.

In chemischer Beziehung ist die innere Hülle der Wirkung starker Laugelösungen und mineralischer Säuren gegenüber nahezu ebenso widerstandsfähig wie die äußere. In in Fäulnis übergegangenen Kulturen trifft man häufig Stiele, in denen nur die beiden Hüllen erhalten geblieben sind, doch finden sich auch solche vor, die nur mehr die äußere Hülle bewahrt haben.

Eine feinere Struktur der inneren Hülle konnte ich nicht erkennen. Häufig lassen sich besonders an Biegungsstellen und in hypertonischen Lösungen Längs- und Querstrichelungen wahrnehmen; bei aufmerksamerer Betrachtung erweisen sich diese Strukturen jedoch als Falten, ein Resultat der Schrumpfung des Stieles (Fig. 10*a* u. 10*b*).

§ 4. Kinoplasma und Thekoplasma. Das die innere Hülle ausfüllende Protoplasma zerfällt in zwei scharf abgegrenzte Schichten. Das Markplasma des Stieles ist homogen und glänzend; an den Seitenästen und an jungen Exemplaren von *Z. alternans*, ebenso wie in den Stielen von *Vorticella* füllt dasselbe fast das ganze Lumen der inneren Hülle aus. Ein eingehenderes Studium zeigt jedoch auch hier, daß dasselbe von der Hülle durch eine feine Schicht Thekoplasmas geschieden wird. Auf der den unteren Teil des Stieles von *Z. alternans* wiedergebenden Abbildung (Fig. 1) erreicht die Rindenschicht des Thekoplasmas eine recht bedeutende Mächtigkeit; hier ist auch die charakteristische Eigenart des Thekoplasmas, deren körnige Struktur wiedergegeben. Nach der Färbungs-

fähigkeit dieser Körner spricht Fauré-Frémiet[1]) sie als Mitochondrien an, was mir keineswegs sicher gestellt scheint. Bei genauerer Betrachtung der Abbildung erkennt man, daß an manchen Stellen das Theko- und Kinoplasma in zwei Streifen nebeneinander liegen, deren jeder mit einer Seite der Hülle gewissermaßen anliegt. Und da die Streifen des Kino- und Thekoplasmas dabei an jeder Biegung des Stieles ihre Stellung wechseln, so könnte es leicht scheinen, daß wir es hier tatsächlich mit zwei spiralig umeinander gewundenen Fäden zu tun haben. Bei *Vorticella* und jungen Exemplaren von *Zoothamnium*, bei denen das Thekoplasma im Verhältnis zum Kinoplasma eine sehr geringe Ausbildung erreicht, erscheint dasselbe als eine einzige Reihe von Körnern, welche sich um den glänzenden Kinoplasmafaden herumschlingt. Doch läßt auch hier fast ein jeder Stiel erkennen, daß vereinzelte Körner aus der Reihe heraustreten und über die ganze Oberfläche sich verstreuen. Und im unteren Abschnitt des Stammes von *Z. alternans* lehrt die direkte Beobachtung, besonders während der verschiedenen Kontraktionsmomente des Stieles, daß das Kinoplasma an keiner einzigen Stelle der Hülle unmittelbar anliegt. Da jedoch bei geringerer Dicke des Stieles das Bild viel an Deutlichkeit einbüßt, so wird es verständlich, daß Entz im Myonem der Vorticellinen zwei verschiedene Fäden unterscheidet: das körnige Axonem (entspricht meinem Thekoplasma) und das homogene Spasmonem (entspricht meinem Kinoplasma).

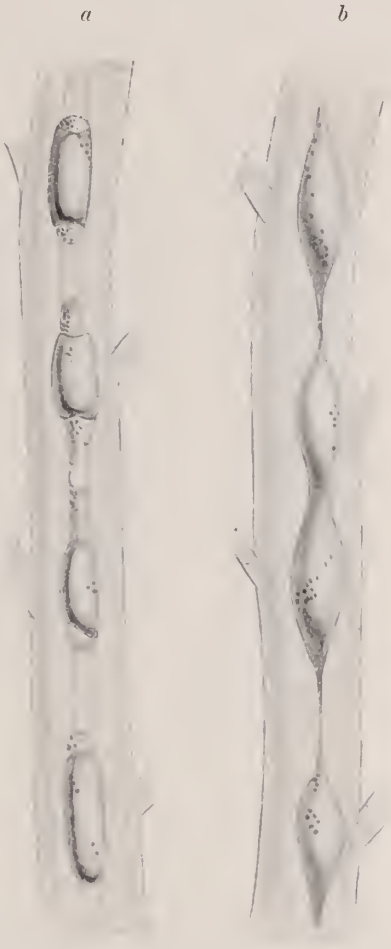
Wenn eine ganze Reihe von Merkmalen (Fortbewegung der Körnchen, häufig Vacuolen) zweifellos auf den ersten Blick den flüssigen Aggregatzustand des Thekoplasmas offenbart, so erscheint es als das natürlichste, das Kinoplasma als feste elastische Faser aufzufassen, worauf auch deren glatte Umrisse hinweisen. Nichtsdestoweniger besitzen wir unzweifelhafte Beweise des flüssigen Aggregatzustandes desselben.

Erstens läßt sich durch Herabsetzung des osmotischen Druckes in hypotonischen Lösungen eine deutliche Vacuolisierung des Kinoplasmas erzielen. Anfangs tritt an der betreffenden Stelle die erste völlig kugelförmige Vacuole auf, die beinahe den ganzen Querdurchmesser des Kinoplasmas ausfüllen kann; weiter kann eine zweite Vacuole entstehen, wobei beide nun einen Druck aufeinander ausüben und durch eine flache Scheidewand getrennt werden; weiter eine dritte usf. (Fig. 9 u. 11). Bei Überführung in eine isosmotische Lösung verschwinden die Vacuolen. Die Kontraktilität bleibt während der Bildung der Vacuolen die normale, wenn die Hypotonie der Lösung nicht allzu bedeutend war.

[1]) Arch. de l'anatomie micr. 1910. Pl. XIX. Fig. 18.

Als zweiter überzeugender Beweis des flüssigen Aggregatzustandes des Kinoplasmas dient folgendes: unter der Einwirkung der verschiedenartigsten äußeren Einflüsse (doppelt und mehr verdünntes Seewasser, stark konzentriertes Seewasser, dem Seewasser isosmotische Lösungen von NaCl, KCl u. a. m.) zerfällt die Kinoplasmasäule in eine Reihe kugelförmiger Tropfen (Fig. 2 u. 3). In Abhängigkeit von den den Zerfall veranlassenden Umständen können die Tropfen einen größeren oder geringeren Durchmesser zeigen. Die kleinen Tropfen sind kugelförmig, bei ihrer Vergrößerung nehmen sie eine abgeplattete Gestalt an, da sie im engen Raum der Myonemhülle nicht Platz finden; letztere bläst sich meist an den Stellen der Tropfenbildung auf und zieht sich dagegen in den Zwischenräumen zwischen den Tropfen zusammen. Das Kinoplasma bewahrt bei seinem Zerfall in Tropfen durchaus sein früheres Aussehen und keinerlei Hinweise darauf, daß dabei irgend tiefgehende Umwandlungen in der chemischen Zusammensetzung und im Aggregatzustande stattfinden, lassen sich feststellen: genau auf dieselbe Weise würde unter gewissen Bedingungen der Zerfall einer beliebigen Flüssigkeitssäule vor sich gehen, z. B. einer Quecksilbersäule oder eines zähen Sirupfadens. Was das Thekoplasma anbetrifft, so fließt dasselbe, dem Druck der Tropfen nachgebend, in alle freien Zwischenräume hinein und wird dabei stark vacuolisiert. Der besprochene Zerfall des Kinoplasmas tritt unter gewissen Bedingungen mit absoluter

Fig. 2.



Zwei verschiedene Typen des Zerfalls des Kinoplasmas bei *Z. alternans*. *a* = vollständiger; *b* = unvollständiger Zerfall.

Gewißheit ein; dieser Prozeß liegt der Mehrzahl von Experimenten, welche den Stoff des zweiten Teiles meiner Arbeit liefern, zugrunde.

Die Fähigkeit der Vacuolisierung und des Zerfalls in Tropfen schließt den Gedanken an einen festen Aggregatzustand des Kinoplasmas völlig aus. Das einzige Merkmal, das der Anerkennung des Kinoplasmas als Flüssigkeit widerspricht, sind die ebenen Umrisse der Kinoplasmasäule. In den Fällen, wo das Thekoplasma eine nur geringe Ausbildung erreicht, ließen sich diese glatten Umrisse noch durch die zusammenhaltende Wirkung der Myonemhülle erklären; im Basalabschnitt des Stammes von *Z. alternans*, wo das Thekoplasma stark entwickelt ist, kann eine solche Erklärung jedoch nicht Anwendung finden. Doch hier sind die Umrisse schon nicht mehr so eben: die Kinoplasmasäule erweitert sich bald, bald verschmälert sie sich wieder und zeigt keineswegs das Aussehen eines regelmäßigen Cylinders. Doch zerfällt sie unter natürlichen Bedingungen auch hier nicht in Tropfen; die diesen Zerfall verhindernde Ursache liegt augenscheinlich in den an der Oberfläche des Kinoplasmas angeordneten Skeletfibrillen.

Fig. 3.

Die Entstehung des Tropfens beim Zerfall des Kinoplasmas. In *a* ist die Trennungsstelle von einer allmählich wachsenden Vacuole eingenommen. In *b* ist das Ende des Kinoplasmasäulchens vor der Trennung verdickt.

§ 5. Die Skeletfibrillen ziehen sich in der Grenzschicht des Kinoplasmas die ganze Länge des Stieles entlang. Dieselben verlaufen nahezu parallel zueinander, wobei sie mehr oder weniger der Längsachse des Stieles entlang ziehen, doch eine gewisse Tendenz offenbaren sich spiralig zu krümmen. Jede einzelne Faser eine größere Strecke zu verfolgen ist sehr schwierig, doch traf ich in der Mitte des Stieles nie auf freie Faserenden oder auf Verzweigungen derselben. Bei der Beobachtung muß vor einer Verwechslung der Skeletfasern mit den Längsfalten der Myonemhülle, die unter der Wirkung hypotonischer Lösungen auftreten, gewarnt werden (Fig. 10 *a* u. *b*).

Bei Einzelformen, deren Köpfe sich von denen in den Kolonien von *Zoothamnium alternans* in keiner Beziehung unterscheiden und die wahrscheinlich das Stammindividuum einer künftigen Kolonie darstellen,

konnte ich die Beobachtung machen, daß eine der Fasern sich durch seinen Durchmesser scharf von den in diesem Stadium kaum erkennbaren übrigen Fasern hervorhob. Die dickere Faser nimmt hier eine ganz bestimmte Stellung an jener Seite des Kinoplasmas ein, welcher die Körnerreihe des Thekoplasmas gegenüberliegt. An den Biegungen nimmt die

Fig. 4. Fig. 5.

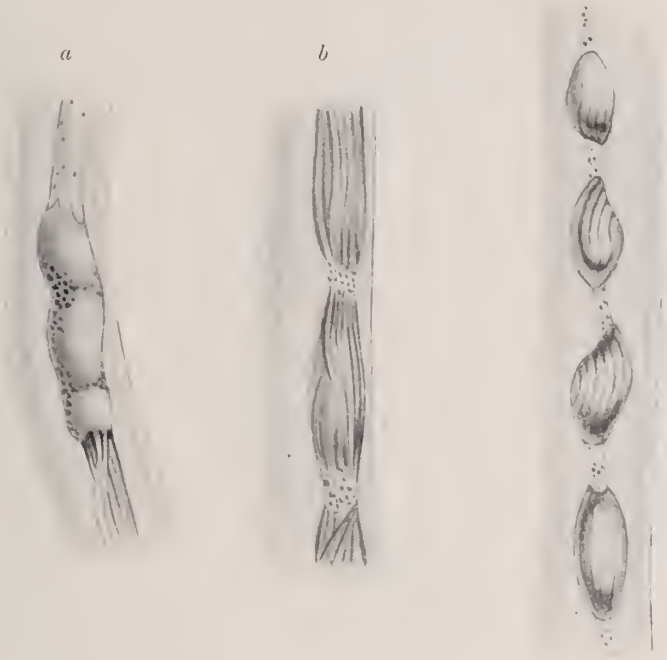


Fig. 4. Beim Zerfall des Kinoplasmas in *a* sind die Skeletfibrillen am unteren Ende des Tropfens intakt geblieben, am oberen Ende aber wahrscheinlich alle außer zwei intakt gebliebenen zerrissen.
Fig. 5 Spindelförmige Gestalt der Tropfen wird von der Richtung der Skeletfibrillen bestimmt.

Faser an der verkürzten Seite, näher zur äußeren Hülle des Stieles Stellung, während der körnige Teil des Thekoplasmas zur längeren Seite zurücktritt und weiter von der äußeren Hülle entfernt ist.

An unveränderten lebenden Stämmen erwachsener Kolonien von *Z. alternans* konnte ich keine solchen besonders dicken Fasern entdecken; sie scheinen alle ungefähr gleich dick zu sein. Doch ist es keineswegs unmöglich, daß solche dickere Fasern auch hier vorhanden sind, wenigstens lassen sich Spuren derselben in solchen Stielen erkennen, deren Kinoplasma in Tropfen zerfallen ist. Bei einem solchen Zerfall kann das

Schicksal der Skeletfibrillen ein verschiedenes sein. In manchen Fällen zerreißen die Fibrillen und ihre Enden ragen an verschiedenen Stellen hervor und verleihen der oberen und unteren Fläche der Kinoplasmatropfen ein etwas unebenes Aussehen (Fig. 4). In andern Fällen findet ein solches Zerreißen nicht statt, und statt dessen treten die Fibrillen

Fig. 6. Fig. 7. Fig. 8.

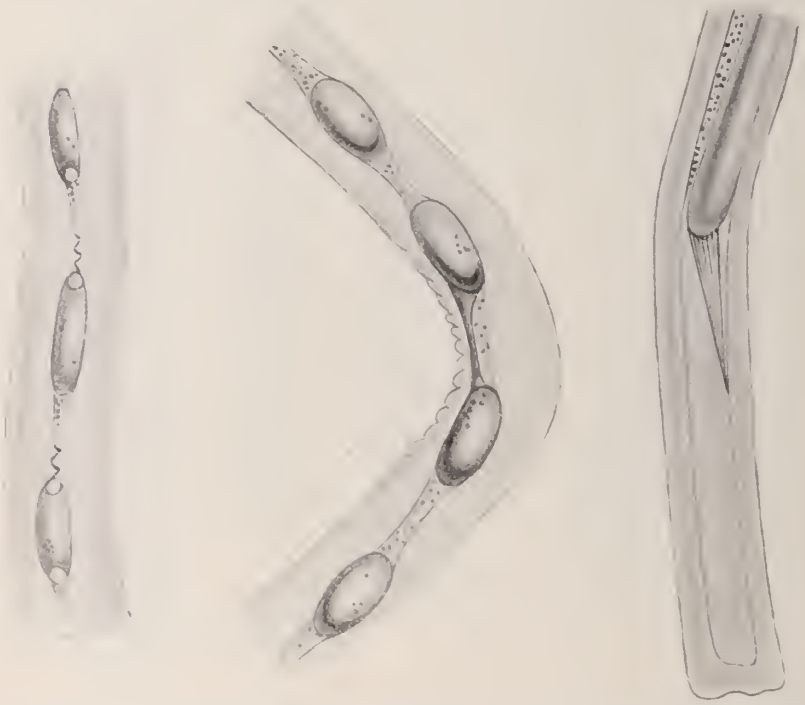


Fig. 6. Zwischen zwei Kinoplasmatropfen nehmen die innere Hülle und die intakt gebliebenen Fibrillen eine Schraubengestalt an.
Fig. 7. Bewegung des Stieles an der Stelle unvollständiger Trennung von zwei Kinoplasmatropfen.
Fig. 8. Das proximale Ende des Stieles von *Z. alternans*.

in den Zwischenräumen zwischen den Kinoplasmatropfen, hier im Thekoplasma eingebettet, in ein feines, nicht leicht zu bemerkendes Bündel zusammen. Die Kinoplasmatropfen können dabei eine fast spindelförmige Gestalt annehmen und an ihrer Oberfläche lassen sich spiralig zusammengewundene Parallelfasern erkennen (Fig. 5).

Endlich kann der Fall eintreten, daß die meisten Fasern beim Zerfall des Kinoplasmas in Tropfen zerreißen, während einige ihr Los nicht teilen, ganz bleiben und sich in Form eines feinen Faserbündels von Tropfen

zu Tropfen hinziehen; häufig läßt sich dann auch am Tropfen die Fortsetzung dieses Fadens erkennen, der sich hier ununterbrochen über eine Reihe von Tropfen erstreckt. Ob wir es nun hier mit einer einzigen dickeren Faser oder aber mit einem wirklichen Faserbündel zu tun haben, diese Frage läßt sich nur schwer beantworten. Für letzteres spricht der Umstand, daß in gewissen Fällen (Fig. 6) der Faden zwischen den Tropfen ein schraubenförmiges Aussehen annimmt, was entschieden den Eindruck macht, als wenn eine Faser des Bündels kürzer wäre als die andern. Wenn beim Zerfall des Kinoplasmas die Skeletfibrillen intakt bleiben, so können zwei nebeneinander liegende Kinoplasmatropfen durch eine Brücke verbunden bleiben; an dieser Stelle bemerkt man gewöhnlich eine Biegung des Stieles (Fig. 7).

Jedenfalls, wenn während des Zerfalls des Kinoplasmas in Tropfen die Fibrillen auch ganz unversehrt bleiben, so geht doch die Kontraktilität des Myonems in diesem Moment verloren, was ganz unzweideutig darauf hinweist, daß die Fibrillen lediglich Skeletelemente, keinesfalls aber kontraktile Gebilde darstellen.

Von Interesse ist die Beteiligung der Skeletfibrillen an der Anheftung des Proximalendes des Myonems (Fig. 8). Wie ich schon oben darauf hinwies, ist das Proximalende des Stieles von *Z. alternans* nicht kontraktil. Das Myonem endigt bedeutend höher, wobei die Myonemhülle sich der inneren Fläche der äußeren Hülle des Stieles anheftet. Das Kinoplasma endigt oberhalb dieser Anheftungsstelle, während die Skeletfasern aus dem Kinoplasma hervortreten, um sich zu einem kegelförmigen Büschel zu vereinigen, dessen Spitze sich der Verbindungsstelle zwischen äußerer und innerer Hülle anheftet. Dieses außerhalb des Kinoplasmas liegende Bündel von Skeletfasern ist, wie die Beobachtung lehrt, nicht kontraktil, was wiederum als Bestätigung dessen dient, daß diese Fasern ausschließlich Skeletelemente darstellen und über keinerlei selbständige Kontraktilität verfügen.

Kapitel 2. Gleichgewichtsbedingungen des Vorticellinenstiels.

So sehen wir denn, daß alle drei festen Skeletbildungen — beide Hüllen und das Faserbündel — in ihrem natürlichen Zustande eine gestreckte Gestalt besitzen. Wenn es gelingen würde, das flüssige Kino- und Thekoplasma so aufzulösen, daß die physikalischen Eigenschaften des Skelets unverändert blieben, so würde die äußere Hülle als regelmäßige cylinderförmige Röhre erscheinen, deren Achse entlang eine ebensolche, nur dünnere und längere Röhre (von der Anheftungsstelle am Proximalende gerechnet) — die Myonemhülle — verlaufen würde,

während im Innern der letzteren sich ein Büschel gerader Fibrillen, die ihrerseits augenscheinlich ein wenig länger wären als die innere Hülle, erkennen ließe. Da die Distalenden beider Hüllen und des Faserbündels auf einem Niveau (Basis des Kopfes) ihren Abschluß finden, so würde die innere Hülle sich als schwach spiralig gewunden erweisen; das gleiche würde auch innerhalb der letzteren mit den Fibrillen der Fall sein. Mit einem Wort, wenn wir uns das Kino- und Thekoplasma weggeschafft denken, so würden sich die Skeletelemente des Stieles in einer dem ausgestreckten Zustande des lebenden Stieles nahezu entsprechenden Lage fixiert erweisen. Doch im lebenden Stiel, selbst bei völliger Streckung desselben, befinden sich die Skeletelemente selbstverständlich nicht in ihrer natürlichen, sondern in einer gezwungenen Lage. Denn die innere Hülle wird von einer Flüssigkeit ausgefüllt, welche dank der Oberflächenspannung und dem osmotischen Druck bestrebt ist, ihre Oberfläche auf ein mögliches Minimum zu reduzieren und Kugelform anzunehmen; die innere Hülle wirkt diesem Bestreben entgegen, wird jedoch selbst ausgedehnt und verkürzt sich infolgedessen. Der Kraft der Oberflächenspannung des flüssigen Inhalts des Myonems S und desjenigen des osmotischen Druckes P, welche dahin strebt, dem ganzen Myonem Kugelform zu verleihen, wird von der Elastizitätskraft der inneren Hülle (E_i) und der Skeletfibrillen (E_f) die Wage gehalten, da diese zu ihrem natürlichen, gestreckten Zustande zurückzukehren streben. Nehmen wir den Fall, wenn die äußere Hülle ganz ausgestreckt ist und innerhalb derselben die ebenfalls ausgestreckte innere Hülle verläuft, so bedeutet dies, daß die äußere Hülle sich in ihrem natürlichen Zustand befindet und die Gleichgewichtsbedingungen lassen sich dann durch folgende Formel zum Ausdruck bringen:

$$S + P = E_i + E_f.$$

Setzen wir nun aber voraus, daß unter dem Einfluß der einen oder andern Ursachen die Oberflächenspannung (S) oder der osmotische Druck (P) des Theko- und Kinoplasmas zugenommen hat. In diesem Falle wird sich das Myonem der angestrebten Kugelform schon etwas nähern, d. h. dasselbe wird sich verkürzen und verbreitern, kurz »kontrahieren«; die Myonemhülle wird sich dabei ausdehnen und ihre Elastizität anwachsen, ebenso wie der Widerstand der Skeletfibrillen. Wenn bei der Kontraktion das Myonem kürzer wird als die äußere Hülle, so wird auch diese aus ihrem Ruhezustand gebracht und wird sich dabei wellenförmig zusammenfalten oder in Form einer Spirale zusammenrollen, mit je nach dem Grade der Kontraktion des Myonems mehr oder weniger steilen Windungen.

Ziehen wir durch eine dünne Kautschukröhre eine ausgezogene Gummischnur, so wird sich sowohl die erstere, als auch die in derselben eingeschlossene letztere spiralförmig zusammenrollen, und zwar in entgegengesetzten Richtungen, und wir erhalten ein Modell eines zusammengerollten Vorticellinenstiels, wobei die Röhre die Rolle der äußeren Hülle, die Schnur die des Myonems spielen wird; die Spannung der inneren Schnur wird der Oberflächenspannung und dem osmotischen Druck des Kino- und Thekoplasmas entsprechen

$$S' + P' = E'_i + E'_e + E'_e$$

(wo E'_e den Elastizitätswiderstand der äußeren Hülle kennzeichnet).

Wir können annehmen, daß die Oberflächenspannung des Kino- und Thekoplasmas (S), ebenso wie der osmotische Druck (P), denen eine unbegrenzte Anzahl von Bedeutungen entspricht, sich ununterbrochen ändern können. In diesem Falle wird der Vorticellenstiel eine ebenso unbegrenzte Anzahl von Gleichgewichtsstadien aufweisen, da bei einer jeden Veränderung in der Oberflächenspannung oder dem osmotischen Druck $S' + P'$, bzw. $S'' + P''$ ganz automatisch ein neuer Wert für den Elastizitätswiderstand der Skeletbildungen geschaffen wird: $E'_i + E'_f + E'_e$, bzw. $E''_i + E''_f + E''_e$ usw. Andrerseits ist es möglich, daß gewisse Werte für P und besonders für S einen maximalen eventuell minimalen oder besonders stabilen Charakter zeigen und dadurch die Zahl der möglichen Gleichgewichtszustände entsprechend eingeschränkt wird. Bei der im Leben des *Zoothamnium* größtmöglichen Bedeutung des Wertes $S + P$ findet das Maximum von Kontraktion, bei der kleinsten die völlige Ausstreckung des Stieles statt.

Bis jetzt war bei Betrachtung der Gleichgewichtsbedingungen des Vorticellinenstiels nur von der Oberflächenspannung und dem osmotischen Druck des ganzen flüssigen Inhalts des Myonems die Rede, ohne jeden Unterschied zwischen Kino- und Thekoplasma. In Wirklichkeit ist S aus zwei verschiedenen Größen zusammengesetzt: 1. σ — die Spannung an der Oberfläche Kinoplasma — Thekoplasma und 2. s — an der Oberfläche Thekoplasma — innere Hülle (welche letztere mit Seewasser durchtränkt ist). Nach dem Benetzungsgesetz wird Thekoplasma als dünne Schicht zwischen Kinoplasma und innerer Hülle nur dann sich ausbreiten, wenn $\sigma + s < \Sigma$, wo Σ = Oberflächenspannung zwischen Kinoplasma und innerer Hülle. In diesen Grenzen können σ und s unabhängig variieren mit einem und demselben Resultat. Es kann wohl, z. B., die Oberflächenspannung σ (Kinoplasma-Thekoplasma) allein variieren und bei ihrer Verkleinerung wird der ganze Stiel sich ausstrecken, bei ihrer Vergröße-

rung zusammenziehen; im letzteren Fall darf nur σ nicht größer werden als $\Sigma - s$, sonst erfolgt die Zerstörung der äußeren Thekoplasmascheicht. Es ändert sicher nichts in unsrer obigen Darstellung, wenn wir annehmen, daß s und P ständige Größe haben und nur σ allein variiert; dann wird unsre Formel so heißen:

$$P + s + \sigma^n = E_i^n + E_f^n + E_e^n.$$

Wir werden unten Beweise anführen, daß in Wirklichkeit gerade diese Formel zutrifft.

Es bleibt uns übrig zu erklären, bei welchen Gleichgewichtszuständen das Zerfließen des Protoplasmas in Tropfen vorkommt. Die Ursache dieses Vorgangs ist augenscheinlich darin zu suchen, daß die Oberflächenspannung an der Grenze zwischen Theko- und Kinoplasma, möglicherweise auch der osmotische Druck[1]) in letzterem, über die Grenze hinaus zunimmt, bei welcher die Elastizität der inneren Hülle und der Skeletfasern die Flüssigkeitssäule zusammenzuhalten imstande ist.

Auf diese Weise gelangen wir durch das Studium der Gleichgewichtsbedingungen des Vorticellinenstiels zur Überzeugung, daß dank den strukturellen Eigenarten des Stieles, dank dem Skelet desselben, eine Veränderung im osmotischen Druck und der Oberflächenspannung des Kino- und Thekoplasmas (oder nur des ersteren) zur Kontraktion, bzw. Streckung des Stieles, mit all den komplizierten Eigenarten dieser Bewegung, führen muß. Es bleibt nun die Frage offen, ob bei der Kontraktion wirklich eine Veränderung des osmotischen Druckes oder der Oberflächenspannung stattfindet. Diese Frage wollen wir im zweiten Teil der vorliegenden Arbeit zu lösen suchen.

Zweiter Teil.

Dynamik des Vorticellinenstiels.

Kapitel 1. Rolle des osmotischen Druckes.

Wie ich im folgenden Kapitel nachweisen werde, kann eine Veränderung in der chemischen Zusammensetzung des Seewassers, selbst eine quantitativ ganz minimale, eine plötzliche scharfe Änderung der Oberflächenspannung des Kinoplasmas veranlassen. Infolgedessen läßt sich in den Experimenten mit der Wirkung des osmotischen Druckes das See-

[1]) Die Frage von der Beteiligung des osmotischen Druckes in diesem Prozeß soll im zweiten Teil näher zur Besprechung kommen.

wasser nicht durch isosmotische Lösungen weder von Elektrolyten, noch von Anelektrolyten ersetzen. Für das Studium des Einflusses des osmotischen Druckes in seiner reinen Bedeutung lassen sich nur verdünnte oder konzentrierte Seewasserlösungen ohne jegliche Veränderung der chemischen Zusammensetzung desselben, verwenden. Bei Verdünnung des Seewassers durch destilliertes findet wahrscheinlich keine chemische Veränderung statt; bei Konzentration des Seewassers durch Verdampfen desselben dagegen zur Erzielung hypertonischer Lösungen, gewinnt das Wasser eine Säurereaktion, die naturgemäß einen großen Einfluß auf die Oberflächenspannung ausübt. Die Reaktion läßt sich durch vorsichtiges Zusetzen von NaOH neutralisieren, doch wird die Reinheit des Experiments dadurch doch herabgesetzt und infolgedessen eignen sich stark (z. B. doppelt) durch Kochen konzentrierte Lösungen von Seewasser doch wenig für die Experimentierung. Jedenfalls muß sowohl das verdünnte, als auch das konzentrierte Seewasser gut mit Luft durchgeschüttelt werden, um eine möglichst vollständige Durchlüftung zu erzielen.

Die Experimentierung mit dem Einfluß des osmotischen Druckes wurde auf zweierlei Weise ausgeführt.

Erstens wurden zum Studium der Folgen eines raschen Wechsels des osmotischen Druckes Schalen mit 10—15 ccm gut durchlüfteten verdünnten (bzw. konzentrierten) Seewassers bereitgestellt und die unbeschädigten Kolonien von *Z. alternans* oder Bryozoenstöcke mit solchen Kolonien in dieselben übertragen; die Objekte wurden nach mehreren, bzw. nach 24 Stunden durchgesehen.

Zweitens wurden zum Zweck des eingehenden Studiums der Folgen eines plötzlichen oder allmählichen Wechsels des osmotischen Druckes unter das Deckglas zu den darunter befindlichen Vorticellen die einen oder andern Lösungen tropfenweise zugesetzt, wobei sich der ganze Prozeß die ganze Zeit über unter dem Mikroskop verfolgen ließ. Als Beispiel will ich hier einige dieser Experimente schildern.

1. Experiment.

1. VII. 10. 11 U. Vm. Bryozoenstöcke mit Kolonien von *Z. alternans* sind in neun Gläsern untergebracht mit normalem Seewasser (1), mit verdünntem Seewasser (0,8; 0,6; 0,4; 0.2; 0.1; 0,05) und mit konzentriertem Seewasser (1,5; 1,2; d. h. ein Gemisch von normalem Seewasser mit einem ebensolchen Quantum doppelt konzentriertem Seewasser und Seewasser 8 ccm + doppelt konz. Seew. 2 ccm). Nach $22^1/_2$ Stunden (2. VII. 10, $9^1/_2$ U. Vm.) durchgesehen, wobei sich erwiesen im Seewasser 1; 0,8 und 0,6 alle Kolonien lebend, normal, die Stiele im Ruhezustand, bei Reizung kontraktil; die Köpfe unversehrt, geöffnet, die Wimpern in Bewegung. Im Seewasser 0,4 die meisten Kolonien (etwa $^2/_3$) abgestorben mit dunkel gewordenen Köpfen und zerfallenem Kino-

plasma; die übrigen lebend, normal und kontraktil. Übergänge zwischen beiden sind nicht zu entdecken, häufig nebeneinander eine lebende und eine abgestorbene Kolonie; folglich erklärt sich der Unterschied in den Folgen nicht durch die Stelle und andere äußere Umstände. Im Seewasser 0,2 sind fast alle Kolonien abgestorben, die Köpfe abgefallen, im Stiel das Kinoplasma in Tropfen zerfallen; eine große und zwei bis drei junge Kolonien sind jedoch am Leben geblieben, die eine Hälfte des Stieles hat ihre Kontraktilität bewahrt, die andre ist in Tropfen zerfallen. Im Seewasser 0,1 sind sämtliche Kolonien abgestorben, das Kinoplasma in Tropfen zerfallen. Im Seewasser 0,05 sind alle Kolonien abgestorben, doch fünf Köpfe der einen Kolonie sind am Leben geblieben, sind geöffnet und ihre Wimpern in Bewegung, während das Kinoplasma des Stieles trotzdem in Tropfen zerfallen ist.

Im Seewasser 1,2 und 1,5 sind alle abgestorben, das Kinoplasma in Tropfen zerfallen. Zur Kontrolle wurden diese beiden Experimente mit konzentriertem Seewasser, das bei der Lackmusprobe sauer reagierte, den folgenden Tag nochmals wiederholt, wobei gleichzeitig auch die Wirkung von Seewasser, welches durch Verdampfung doppelt konzentriert und dann mit destilliertem Wasser bis zur ursprünglichen Stärke des Seewassers 1 verdünnt wurde, geprüft. Es erwies sich, daß in diesem künstlich zubereiteten Seewasser 1, ebenso wie in 1,5 und 1,2 die Vorticellen nicht am Leben bleiben und die Stiele zerfallen.

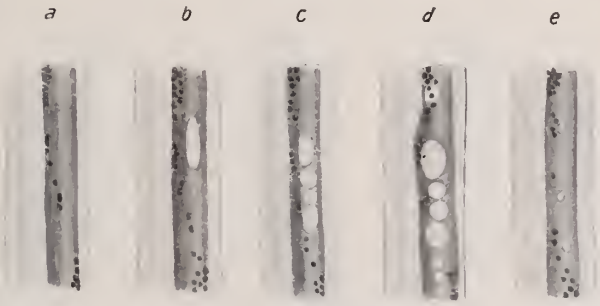
Das eben beschriebene Experiment bringt uns zur Überzeugung, daß eine starke Verdünnung des Seewassers (beinahe um das doppelte) selbst bei plötzlicher Einwirkung keinen Einfluß auf die Kontraktilität des Vorticellenstiels ausübt; die Frage von der Wirkung eines erhöhten osmotischen Druckes muß dagegen fürs erste noch als offenstehend angesehen werden.

2. Experiment.

19. VI. 10. Unter dem Mikroskop befindet sich unter dem Deckglase in Seewasser eine junge Kolonie von *Zoothamnium* mit zwei Köpfen. a) Es werden einige Tropfen verdünnten Seewassers 0,6 unter dem Deckglas durchfließen gelassen — mehrere krampfartige Kontraktionen; nach 5 Minuten streckt sich der Stiel aus und nimmt eine ruhige Stellung ein, wobei er auf Stöße durch Kontraktion reagiert. b) Es wird Seew. 0,3 unter das Deckglas gebracht — keine Veränderungen. c) Seew. 0,15 — die Köpfe beginnen anzuschwellen, doch bleibt der Wimpernbesatz unversehrt und führt hin und wieder Flimmerbewegungen aus. *d*) Seew. 0,075 — die Köpfe quellen noch stärker an und nähern sich der Kugelform. Im Stiel quillt das Myonem, speziell die Kinoplasmasäule an; an einer Stelle tritt im Kinoplasma eine anfangs kugelförmige, bei ihrer weiteren Vergrößerung sich ausstreckende Vacuole auf. Auf einen Reiz reagiert der Stiel durch normale Kontraktion (Fig. 9b). e) Seew. 0,05. Hinter und vor der bereits erwähnten Vacuole treten neue Vacuolen auf; sämtliche Vacuolen blasen sich beim Aufquellen des Myonems auf; die Kontraktilität ist normal (Fig. 9c). f) Seew. 0,04, dann g) Seew. 0,025. Das Myonem quillt auf, die Vacuolen im Kinoplasma blasen sich auf, die Kontraktilität des Stieles ist eine normale. Im Thekoplasma treten Vacuolen auf (Fig. 9*d*). h) Destilliertes Wasser. Nach einer Reihe energischer Kontraktionen des Stieles verschwinden die Vacuolen im Kinoplasma fast ganz. Die Kontraktilität des Stieles bleibt eine normale (Fig. 9e). i) Von neuem wird unter das Deckglas nor-

males Seewasser 1 gebracht. Die Köpfe sind außerordentlich zusammengeschrumpft, geöffnet, die Wimpern sind bewegungslos vorgestreckt. Der Stiel rollt sich spiralförmig zusammen und bleibt lange Zeit über im Zustand der maximalen Kontraktion. Die äußere Hülle bleibt unverändert (gewährt den Salzen augenscheinlich freien Durchtritt!); das Myonem ist stark zusammengeschrumpft, die Hülle desselben zeigt Schrumpfungsfalten (für Salze im ersten Augenblick impermeabel!); nach und nach rollt sich der Stiel wieder auf. k) Erst verdünntes Seewasser 0,2, dann destilliertes Wasser. Die Köpfe blasen sich auf, das Myonem quillt bis zu seinen früheren Dimensionen an, der Stiel reagiert schwach auf äußere Reize. l) Seewasser 1. Von neuem starke Schrumpfung der Köpfe; der Stiel rollt sich spiralförmig zusammen, das Myonem ist verschmälert; nach Verlauf mehrerer Minuten beginnt an einem Ende der Kinoplasmasäule der Zerfall in Tropfen, wobei sich bei der Bildung eines jeden Tropfens der entsprechende

Fig. 9.



Vacuolisierung des Kinoplasmas in einem lebenden kontraktionsfähigem Stiele von *Z. alternans* unter dem Einfluß einer hypotonischen Lösung.

Abschnitt des Stieles ausstreckt. m) Destilliertes Wasser. Die ganze Kinoplasmasäule zerfällt in Tropfen; der Stiel streckt sich gerade aus, die Köpfe werden abgeworfen.

Das von uns eben verfolgte Experiment, das viele Male von mir mit gleichem Erfolg wiederholt wurde, gestattet uns eine Reihe von Tatsachen, von denen bereits im vorhergehenden Teil dieser Arbeit die Rede war, festzustellen, und zwar: 1. das Kinoplasma befindet sich in einem flüssigen Aggregatzustande; 2. die äußere Hülle gewährt nicht nur dem Wasser, sondern auch den Salzen freien Durchtritt; 3. die innere Hülle stellt eine im ersten Moment semipermeable Membran dar. Unter diesen Bedingungen erscheint das Aufquellen des Myonems und die Vacuolisierung des Kinoplasmas unter dem Einfluß hypotonischer Lösungen durchaus natürlich. Doch muß hier besonders auf einen äußerst wichtigen Umstand hingewiesen werden: die Vacuolisierung des Kinoplasmas wirkt nicht auf die Kontraktilität des Stieles ein, sie verändert weder die Energie, noch die Form dieser Erscheinung. Da dieser Tatsache eine außerordentlich wichtige theoretische Bedeutung zukommt, so scheint

es mir geboten, hier noch einige Abbildungen zur Darstellung zu bringen, wo das Kinoplasma unter dem Einfluß hypotonischer Seewasserlösungen stark vacuolisiert ist und die Stiele ihre normale Kontraktilität trotzdem doch nicht eingebüßt haben (Fig. 11).

Da die Wirkung hypertonischer Lösungen durch die oben angeführten Experimente nicht aufgeklärt wurde, so will ich noch zwei solche Experimente beschreiben.

3. Experiment.

20. VI. 10. In einer offenen Schale mit Seewasser sind zwei Stämme von *Z. alternans* untergebracht. Am folgenden Tage erweist sich das Wasser um die Hälfte

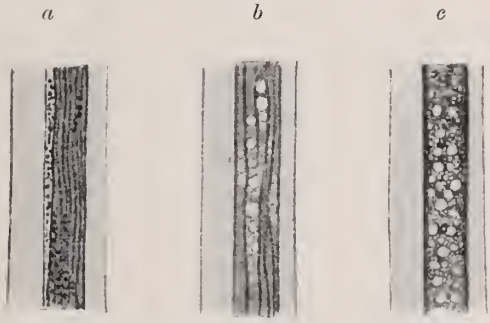
Fig. 10.

Die Falten der inneren Hülle, welche in hypertonischer Lösung entstehen (*a*, *b*), verschwinden bei Wirkung der hypotonischen Lösung (*c*).

verdunstet, doch beide Kolonien sind am Leben geblieben, die Stämme sind unversehrt, trotzdem die größte Mehrzahl der Köpfe abgeworfen sind. Die Myoneme sind zusammengeschrumpft, die innere Hülle zeigt deutliche Längsfalten, die sich mit den Skeletfasern keinesfalls verwechseln lassen (Fig. 10a). Trotzdem ist die Kontraktilität eine normale geblieben und bei einer mäßig starken Kontraktion verschwinden die Falten nicht völlig, sondern sammeln sich wellenförmig (Fig. 10b). a) Unter das Deckglas wird

verdünntes Seewasser 0,6, dann 0,4 gebracht. Starke Quellung, die Falten glätten sich und verschwinden (Fig. 10c). Trotz der bedeutenden Deformation ist die Kontraktion bei äußeren Reizen eine normale. b) Seew. 1. Das Myonem ist viel dünner geworden, jetzt dasselbe Aussehen wie bei a; deutliche Längsfalten. c) Seew. 0,4. Eine Reihe energischer Kontraktionen; das Myonem quillt auf wie bei a. d) Seew. 0,25. Zunehmende Quellung des Myonems. e) Seew. 0,2. Einige Köpfe werden zerstört, das Myonem zerfällt bei manchen Individuen in Tropfen. In den unversehrten Myonemen deutliche Vacuolisierung im Innern des Kinoplasmas (Fig. 11b u. c), während in den oberen Schichten die Skeletfibrillen deutlich erkennbar bleiben (Fig. 11a u. b). f) Seew. 0,05. In den Myonemen, in denen sich die eben erwähnte Vacuolisierung beobachten ließ, findet eine energische Kontraktion des Kinoplasmas statt, die Stiele

Fig. 11.



Drei optische Durchschnitte eines Stieles in hypotonischer Lösung: bei oberer Stellung der Mikrometerschraube (*a*) sind Skeletfibrillen sichtbar.

bleiben 2—3 Minuten in diesem Zustande und strecken sich dann langsam bei gleichzeitigem Zerfall des Kinoplasmas in Tropfen.

Dieses Experiment kann uns davon überzeugen, daß in hypertonischen Lösungen das Wasser aus dem Myonem (dem Kinoplasma) ausgezogen wird, wobei sich die innere Hülle in Längsfalten legt. Für uns ist es von Wichtigkeit festzustellen, daß die Bildung von Falten an der Oberfläche des Thekoplasmas und die Entwässerung des Kinoplasmas und Thekoplasmas keinen merklichen Einfluß auf die Kontraktilität des Stieles ausübt.

4. Experiment.

22. VI. 10. Die *Z. alternans* befinden sich unter dem Deckglas in Seewasser 1. a) Unter dem Deckglase fließt Seewasser konzentriert 2 (saure Reaktion) durch. Der Stiel büßt seine Kontraktilität nicht ein, doch findet die Kontraktion träger und schwächer statt. Das Myonem hat an Dicke zugenommen, die Hülle desselben zeigt ringförmige Falten. b) Seew. 1. Mehrere energische Kontraktionen; das Myonem ist etwas angequollen, die Querfalten sind noch erkennbar. c) Konzentriertes Seew. 2.

Von neuem scharf ausgeprägte Querfaltung der Myonemhülle. Kontraktilität nahezu normal.

d) Seew. 0,5. Der Stiel rollt sich momentan zusammen und verharrt mehrere Minuten lang in diesem Zustand, streckt sich dann aber gleichzeitig mit dem Zerfall des Kinoplasmas in Tropfen.

Auf diese Weise kann sich beim Ansziehen des Wassers aus dem Myonem in hypertonischen Lösungen die Hülle desselben nicht nur in Längs- (Fig. 10*a*), sondern auch in ringförmige Falten zusammenlegen. Die im Seewasser 2 stattfindende Herabsetzung der Kontraktilität findet ihre Erklärung wenigstens zum Teil in der sauren Reaktion desselben.

Fassen wir nun die Resultate der beschriebenen Experimente zusammen. Wir haben gesehen, daß sich die Vorticellinen leicht selbst einer plötzlichen Herabsetzung des osmotischen Druckes anpassen, und bei allmählicher Einwirkung sich sowohl an Süßwasser, als auch an doppelt konzentriertes Seewasser gewöhnen können. Dieses Resultat ist keineswegs unerwartet zu nennen, da wir ein und denselben Arten sowohl im Süß-, als auch im Seewasser begegnen. Andrerseits lebt *Z. alternans* an flachen Stellen nahe der Oberfläche, wo das Wasser bei starken Regengüssen leicht brackig wird.

Von großer Wichtigkeit ist der Umstand, daß die Veränderung des osmotischen Druckes fast ohne Einfluß auf die Kontraktilität des Stieles bleibt. Weder die Faltenbildung der Myonemhülle in hypertonischen Lösungen, noch die Vacuolisierung des Kinoplasmas in verdünntem Seewasser wirken störend auf die normale Kontraktion ein. Von besonderer Bedeutung ist der Umstand, daß die Vacuolen fast den ganzen Umfang des Kinoplasmas einnehmen können, doch solange noch eine feine Außenschicht desselben unversehrt bleibt, bewahrt das Myonem sein früheres Kontraktionsvermögen. Augenscheinlich spielen weder die Veränderungen im osmotischen Druck, noch das Quellen des Protoplasmas bei der Kontraktion des Kinoplasmas eine wesentliche Rolle. Infolgedessen lassen sich die Kontraktionstheorien, die auf den Quellungserscheinungen basieren, für den Vorticellinenstiel nicht in Anwendung bringen. Würde die Ursache der Kontraktion des Myonems in der Quellung der Engelmannschen Inotagmen liegen, so würden die sowohl im Kino-, als im Thekoplasma unter dem Einfluß hypotonischer Lösungen auftretenden Vacuolen durch Verminderung der Anzahl der Inotagmen auf der betreffenden Strecke eine unordentliche Störung der Kontraktion des Stieles veranlassen.

Andrerseits faltet sich die Myonemhülle in hypertonischen Lösungen zusammen, wobei die Oberfläche des Thekoplasmas bedeutend vergrößert

wird, doch übt auch dies nicht den geringsten Einfluß auf die Kontraktilität des Stieles aus. Folglich spielt die Oberflächenspannung des Thekoplasmas im Kontraktionsprozeß des Vorticellinenstiels eine höchstens ganz untergeordnete Rolle. Wir können daraus den Schluß ziehen: Die Ursache der Kontraktion des Vorticellinenstiels liegt in der Veränderung der Oberflächenspannung an der Grenze zwischen Kino- und Thekoplasma.

Kapitel 2. Rolle der chemischen Zusammensetzung des Seewassers.

§ 1. Einleitende Bemerkungen.

Steht die Kontraktion des Vorticellinenstiels von der Veränderung der Oberflächenspannung des Kinoplasmas in Abhängigkeit, so tritt uns die Frage entgegen, durch welche Ursachen wird eine Veränderung der Oberflächenspannung hervorgerufen? Wir wissen, daß die Oberflächenspannung an der Grenze zweier Flüssigkeiten oder an der Grenze zwischen einer Flüssigkeit und einem festen Körper von der Temperatur, dem Druck, den elektrolytischen Erscheinungen und der Adsorption der verschiedenen chemischen Stoffe in Abhängigkeit steht. Unter den Bedingungen meiner Arbeit schien es mir am gebotensten, eben die Abhängigkeit der Oberflächenspannung des Kinoplasmas von der Adsorption zu verfolgen.

In unserm Falle haben wir es mit zwei miteinander in Kontakt stehenden Flüssigkeiten zu tun — dem Kino- und Thekoplasma —, wobei die Oberflächenspannung an ihrer Grenze eine außerordentliche Veränderlichkeit besitzt, fast augenblicklich bis zum Maximum bei der Kontraktion ansteigt und ziemlich allmählich bei der Streckung des Stieles bis aufs Minimum herabsinkt. Denken wir uns folgendes Modell: in der (dem Thekoplasma entsprechenden) Flüssigkeit A ist ein Tropfen der Flüssigkeit B mit gleichem specifischem Gewicht suspendiert, die nur durch die hohe Veränderlichkeit ihrer Oberflächenspannung hervortritt (entspricht dem Kinoplasma). Denken wir uns weiter, daß dieser Tropfen B an einem Büschel elastischer Fasern suspendiert ist, die bei einem Minimum der Oberflächenspannung B ausgestreckt sind und sich bei Erhöhung der Oberflächenspannung von B der kugeligen Oberfläche anschmiegen. Auf diese Weise wird der Tropfen B die Gestalt einer Kugel oder eine mehr oder weniger gestreckte Spindel- oder cylinderförmige Gestalt, in Abhängigkeit von der Intensität der Oberflächenspannung, annehmen.

Denken wir uns nun in der Flüssigkeit A verschiedene chemische Stoffe gelöst. Hier sind drei Fälle möglich:

1. Der lösbare Stoff übt gar keinen Einfluß auf die Oberflächen-

spannung aus (homoiotone Substanz nach der Terminologie Michaelis'[1])). Die Lösung dieses Stoffes in A ruft keinerlei Veränderungen in B hervor.

2. Die gelöste Substanz setzt die Oberflächenspannung zwischen A und B herab (bathotone Substanz Michaelis'); in diesem Falle streckt sich bei Lösung dieses Stoffes in A der Tropfen B um so mehr, je höher die Konzentration der Lösung ist. Doch sind selbst außerordentlich schwache Lösungen imstande, die Oberflächenspannung bedeutend herabzusetzen, da die die Oberflächenspannung vermindernden Stoffe, von der Oberfläche angezogen, adsorbiert werden. Lösen wir z. B. in der Flüssigkeit A eine unbedeutende Menge des einen oder andern Anilinfarbstoffs (die häufig die Fähigkeit besitzen, die Oberflächenspannung bedeutend herabzusetzen), so wird sich der Tropfen B nicht nur strecken, sondern auch an seiner Oberfläche färben, während die Lösung A ihre Färbung verliert.

3. Wenn die in A lösliche Substanz die Oberflächenspannung erhöht (gypsotone Substanz), so verkürzt sich der Tropfen B und nähert sich der Kugelform. Doch ist in diesem Falle die Wirkung selbst stark konzentrierter Lösungen meist eine unbedeutende. Die gypsotone Substanz wird nämlich nicht nur nicht von der Oberfläche angezogen, sondern die Konzentration der Lösung ist in der Oberflächenschicht sogar eine geringere als im umgebenden Medium. Die die Oberflächenspannung erhöhenden Stoffe werden negativ adsorbiert. Sind in der Flüssigkeit A mehrere Stoffe in Lösung, so werden, ceteris paribus, diejenigen am stärksten adsorbiert, die die Oberflächenspannung am meisten herabsetzen.

Nehmen wir nun den Fall, in der Flüssigkeit A ist ein Stoff gelöst, der die Oberflächenspannung stark vermindert, und der Tropfen B hat sich ausgestreckt. Um die Zusammenballung dieses Tropfens zu einer Kugel zu erzielen, genügt es nun keineswegs, in der Flüssigkeit A einen gypsotonen Stoff zu lösen, denn derselbe wird negativ adsorbiert. Wir kommen schneller zum Ziel, wenn es uns gelingt, den bathotonen Stoff von der Oberfläche B, z. B. durch Überführung desselben in eine unlösliche Verbindung oder in eine Verbindung, die negativ adsorbiert wird, zu entziehen. Wenn wir über die Mittel einer solchen Reaktion verfügen würden, so würde unser Modell des kontraktilen Kinoplasmas ein besonders erschöpfendes sein. Wir lösen in A einen bathotonen

[1]) L. Michaelis. Dynamik der Oberflächen. Eine Einführung in biologische Oberflächestudien. 1909.

Stoff — B streckt sich aus; führen unseren Stoff in einen unlöslichen Zustand über — B kontrahiert sich; von neuem lösen wir eine gewisse Menge des adsorbiert werdenden Stoffes auf — B streckt sich von neuem usw. Wenn der gelöste Stoff die Oberfläche B langsam erreicht und schnell in einen untätigen Zustand übergeführt werden kann, so wird das Modell ein besonders vollständiges sein.

Die im Vorticellinenstiel herrschenden Beziehungen sind in einem Punkt bedeutend komplizierter als in unserm Modell: wir haben nicht die Möglichkeit in das Thekoplasma (entsprechend unsrer Flüssigkeit A) einen beliebigen chemischen Stoff einzuführen, da die Hülle des Thekoplasmas, bei ihrer völligen Durchlässigkeit für Wasser, den einen der im Wasser gelösten Stoffen gar keinen Durchtritt gewährt, während sie für die andern in stärkerem oder geringerem Grade permeabel ist, bei größerer oder geringerer Diffusionsgeschwindigkeit. Mit welchen Ursachen diese Elektivfähigkeit des Thekoplasmas (wie auch eines jeden andern Protoplasmas) in Zusammenhang steht, ist uns bis jetzt nicht genau bekannt. Overton hat, bekanntlich, die Meinung vertreten, daß jede Zelle mit Lipoidhülle bedeckt ist und deswegen nur solche Stoffe in das Protoplasma einzudringen vermögen, welche lipoidlöslich (= fettlöslich) sind. Da aber anorganische Salze lipoidunlöslich sind, so können sie nach Overton nicht ins Protoplasma eindringen. Diese Overtonsche Theorie, welche besonders von R. Höber geschützt wurde, steht aber in schroffem Gegensatz zur ganzen Physiologie der Pflanzenernährung und so wurde sie von den meisten Botanikern abgelehnt, teilweise auch widerlegt (s. besonders W. Ruhland, Beiträge zur Kenntnis der Permeabilität der Plasmahaut. Jahrbücher für wiss. Botanik, Bd. XLVI, 1909, wo die Literatur der Frage zusammengestellt ist). Andrerseits sind auch von zoologischer Seite mehrere Tatsachen festgestellt, welche beweisen, daß in gewissen Fällen anorganische Salze (sei es in Gestalt indifferenter Molekeln, oder Ionen) in das Protoplasma einzudringen vermögen und eine wichtige Rolle im Leben der tierischen Zelle spielen. So wies in der ersten Linie C. Herbst nach, daß das in Entwicklung begriffene Seeigelei sich ebenso von anorganischen Salzen »nährt«, wie ein pflanzlicher Organismus. Entscheidende Bedeutung haben auch die wichtigsten Untersuchungen Jacques Loebs und dessen Schule über die Abhängigkeit der Kontraktilität und Nervenleitung von dem Einfluß der Na-, K-, Ca- und Mg-Ionen. Bei meinen unten dargelegten Experimenten bin ich ebenso zur Ansicht gekommen, daß diese und andre anorganische Ionen mehr oder weniger schnell ins Protoplasma des *Zoothamnium*-Stieles eindringen und bei dessen Kontraktilität eine sehr wichtige Rolle spielen. So ist die Over-

TONsche Theorie zu diesem Falle auch nicht anwendbar. Viel wahrscheinlicher erscheint mir der Gedankengang, welcher in den Arbeiten von J. TRAUBE[1]) besonders dargelegt ist. Es soll die Oberflächenspannung beim Durchdringen verschiedener Stoffe ins Protoplasma eine wichtige Bedeutung haben. Es erscheint mir wirklich selbstverständlich, daß die Oberfläche des Protoplasmas sich homoiotonen, bathotonen und gypsotonen Stoffen gegenüber nicht gleich verhalten kann, selbst wenn diese Stoffe so ausgewählt wären, daß ihre Löslichkeit in der Oberflächenschicht des Protoplasmas die gleiche wäre.

Das Seewasser stellt eine Lösung verschiedener anorganischer Salze dar. C. HERBST wandte bei seinen Experimenten über die Entwicklung der Seeigeleier mit Erfolg anstatt Seewassers folgende künstliche Lösung an: 3% NaCl; 0,08 KCl; 0,66% $MgSO_4$; 0,13 $CaCl_2$ + $NaHCO_3$ bis zu neutraler Reaktion, und wir können, wenigstens vorläufig, bei unserm Studium der physiologischen Wirkung des Seewassers uns eben an diese Salze, bzw. Ionen halten. Es wäre von großer Wichtigkeit, ehe wir an die physiologischen Experimente herantreten, sich über die physikalischen Eigenschaften dieser Salze Klarheit zu verschaffen. Soweit mir jedoch bekannt, verfügen wir nur über ganz oberflächliche und zum Teil widersprechende Angaben über die Adsorption der oben erwähnten Salze. Nach FREUNDLICH[2]), der natürlich als große Autorität auf diesem Gebiet gelten muß, sind die Angaben über die Adsorption der Salze »noch recht widerspruchsvoll und schwer zu deuten«. Die Adsorption der wässerigen Lösungen anorganischer Salze wird meistens bestimmt durch in denselben suspendierten Kohlenstaub, Kreide, Kaolin, zerstäubte Metalloxyde, Metalle, Filtrierpapier usw. Die Experimentierungsbedingungen sind hier so beschaffen, daß man sich auf die Genauigkeit der erhaltenen Werte nicht völlig verlassen kann. Es kann deshalb nicht wundernehmen, wenn z. B. in bezug auf Chlornatrium die verschiedenen Autoren zu abweichenden Resultaten gelangen. Nach MORAWITZ wird NaCl gar nicht adsorbiert und erscheint auf diese Weise als homoiotoner Stoff. Nach LAGERGREEN wird NaCl negativ adsorbiert, erweist sich folglich als gypsotoner Stoff. Nach VAN BEMMELEN und EWANS dagegen wird NaCl positiv adsorbiert und ist demnach ein bathotoner Stoff. Laut den Untersuchungen EWANS kann die positive Adsorption stark dissoziierter Salzlösungen bei stärkerer Konzentration sich in eine negative verwandeln,

[1]) Archiv für gesammte Phys. Bd. CV, CXXIII, CXXXII, CXL (1904—1911). Verh. der deutschen Physik. Ges. Bd. X. (1908) u. a.

[2]) H. FREUNDLICH, Kapillarchemie. Eine Darstellung der Chemie der Kolloide und verwandter Gebiete. Leipzig 1909. S. 165 u. f.

wodurch sich möglicherweise die widersprechenden Resultate Lagergreens, der mit stärkeren, annähernd normalen Lösungen arbeitete, erklären.

Wenn die physikalischen Angaben in bezug auf ein bestimmtes Salz einander so widersprechen, so wissen wir noch weniger über die relative Adsorption verschiedener Salze; wir können uns deshalb im physiologischen Experiment noch keineswegs durch die physikalischen Daten leiten lassen. Es erscheint keineswegs ausgeschlossen, daß wir die umfassendste Beleuchtung dieser Frage gerade auf dem Wege des physiologischen Experiments erzielen werden, verdanken wir doch die Kenntnis der Grundprinzipien der physikalischen Chemie eben den physiologischen Untersuchungen über den osmotischen Druck!

Ich bin keineswegs geneigt zu glauben, daß die genauen Daten über die Adsorption der anorganischen Salze das Resultat meiner, unten zu besprechenden Experimente bilden. Nur als eine Hypothese kann natürlich die oben ausgeführte Auffassung betrachtet werden, nach welcher die Geradestreckung des Vorticellinenstiels durch die Adsorption bathotoner Stoffe an der Kinoplasmaoberfläche veranlaßt wird und die Kontraktion des Stieles das Resultat einer chemischen Reaktion, die diesen Stoff wieder fortschafft, bildet. Doch spielte diese Vorstellung für mich die Rolle einer Arbeitshypothese, die mir gewisse Fragestellungen und eine Kombinierung des aus den Experimenten resultierenden Tatsachenmaterials gestattete.

Die tatsächlichen Resultate meiner Experimente lassen sich in zwei Gruppen einteilen. Erstens erweist es sich, daß bei Ersatz des Seewassers durch isotonische Lösungen eines oder mehrerer anorganischer Salze in kürzerer oder längerer Frist der Zerfall des Kinoplasmas in Tropfen eintritt, wobei der bis zum Zerfall des Kinoplasmas verstrichene Zeitraum für ein jedes Salz einen konstanten Wert repräsentiert. Die Gegenüberstellung der erhaltenen Werte gibt uns die Möglichkeit, die Wirkung der verschiedenen Salze und Ionen miteinander zu vergleichen. Zweitens wird durch das Vorhandensein oder Fehlen der einen oder andern Salze, bzw. Ionen, in der umgebenden Lösung der Charakter der Kontraktion des Stieles bestimmt, und zwar in erster Linie die Anzahl der Kontraktionen pro Minute, was eine innigere Beziehung zwischen Kontraktilität und bestimmten Salzen — Ionen erkennen läßt. Infolgedessen teile ich auch im weiteren dieses Kapitel in zwei Abschnitte

§ 2. Zerfall des Kinoplasmas in Tropfen.

Vom morphologischen Standpunkt wurde dieser Vorgang bereits im ersten Kapitel eingehend geschildert. Unter dem Einfluß verschiedener

anormaler Bedingungen stirbt die Vorticelle ab, wobei sich der Stiel sterbend zusammenrollt. Unter gewissen Umständen, z. B. unter dem Einfluß der verschiedenen Fixierungsflüssigkeiten, bleibt der Stiel zusammengewunden; in andern Fällen streckt er sich nach Verlauf einer gewissen Zeit stoßweise aus: an dem einen oder andern Ende oder in der Mitte beginnend reißen sich, einer nach dem andern, Tropfen vom Kinoplasma los und im Moment des Freiwerdens desselben streckt sich der betreffende Abschnitt des Stieles in stoßweiser Bewegung aus und büßt seine Kontraktilität für immer ein. Ein jeder Tropfen nimmt den Raum einer halben Spiralwindung ein, d. h. er liegt im Stamm zwischen zwei benachbarten Seitenästen, in den letzteren zwischen je zwei Köpfen, wobei der Riß zwischen den Tropfen der Abgangsstelle der Seitenäste, bzw. der Köpfe, entspricht.

In Abhängigkeit von den Bedingungen variiert auch der Prozeß des Zerfalls des Kinoplasmas. Der eine oder andre Teil des Vorgangs — die admortale Kontraktion oder der Zerfall in Tropfen — kann sich mehr oder weniger verzögern. Es tritt sogar der Fall ein, daß beide Prozesse fast gleichzeitig vor sich gehen, wobei im ganzen absterbenden Stamm nur eine Kontraktionsknickung auftritt: dieselbe bildet sich an irgendeinem, einem Seitenast entsprechenden Punkt des Stammes, streckt sich darauf gerade aus, wobei vom Kinoplasma ein Tropfen losreißt; bald entsteht in nächster Nachbarschaft eine neue Knickung, ein neuer Tropfen wird losgerissen usw.

Es können wohl kaum ernste Zweifel entstehen, daß die Ursache der admortalen Kontraktion und des Zerfalls des Kinoplasmas in Tropfen prinzipiell dieselbe ist, wie die der Kontraktilität, nämlich die Veränderung der Oberflächenspannung zwischen Theko- und Kinoplasma. Die Oberflächenspannung während der Kontraktion ist wahrscheinlich die nämliche, wie bei der maximalen intravitalen Kontraktion; nur ist die admortale Kontraktion eine irreversible Reaktion, und wird folglich durch irgend ganz besondere, chemische oder physikalische, Vorgänge hervorgerufen. Eine weitere Erhöhung der Oberflächenspannung hat den Zerfall der Flüssigkeitssäule in Tropfen zur Folge, was gleichfalls eine irreversible Reaktion darstellt. Man könnte glauben, diese Erhöhung der Oberflächenspannung sei nur eine Fortsetzung des Prozesses, der das Auftreten der Kontraktionswelle hervorruft. Da jedoch unter gewissen Bedingungen der Stiel in zusammengerolltem Zustande fixiert werden kann, so erscheint die Annahme mehr begründet, daß dem Zerfall in Tropfen ein neuer chemischer oder physikalischer Prozeß, der aufgehalten werden kann, zugrunde liegt. Die weiter unten zu besprechenden Ex-

perimente haben den Zweck zu verfolgen, welchen Schwankungen die Periode der Kontraktionswelle in Abhängigkeit von der chemischen Beschaffenheit des umgebenden Mediums unterworfen ist, und unter welchen chemischen Bedingungen der Zerfall des Kinoplasmas in Tropfen verhindert werden kann.

a) Erste Serie von Experimenten. Wirkung dem Seewasser isosmotischer NaCl-Lösung.

Eine weitverbreitete Ansicht ist die, daß das Chlornatrium einen indifferenten Stoff darstellt, der sich am besten für eine physiologische Lösung, d. h. eine solche Lösung, die den osmotischen Druck auf der nötigen Höhe erhält, ohne irgendeine chemische Wirkung auszuüben, eignet. Dabei wird vorausgesetzt, das Chlornatrium besitze nicht die Fähigkeit, die semipermeable Hülle des Protoplasmas zu durchdringen.

Doch wird der bis zur neuesten Zeit allgemein anerkannte Glaube an die Indifferenz isosmotischer NaCl-Lösungen dem Protoplasma gegenüber, ein Glaube, der auch eine praktische Anwendung darin fand, daß die »physiologische« NaCl-Lösung von den Ärzten in großen Mengen in das Blut des Kranken eingeführt wird, heutzutage stark in Zweifel gezogen. Jacques Loeb und dessen Schule bestehen darauf, daß NaCl in gewissen Fällen eine geradezu giftige, den Tod der Zelle herbeiführende Wirkung ausübt. Um die NaCl-Lösung zu einer wirklich »physiologischen« zu machen, genügt es nicht, daß dieselbe der Flüssigkeit, welche unter normalen Bedingungen die lebende Zelle umgibt, isosmotisch ist; es bedarf noch eines Zusatzes der einen oder andern chemischen Bestandteile, Ca, K usw. (Lösung Ringers). Um diesen Widerspruch aufzuklären, brachte ich *Zoothamnium*-Kolonien in dem Seewasser isosmotische NaCl-Lösungen. Ich bediente mich hierzu des chemisch reinen Chlornatriums der Firma Merck in Darmstadt und stellte aus demselben eine normale Lösung her. Bekanntlich bezeichnet man als eine normale eine solche Lösung, in welcher in 1 Liter so viele Gramm des betreffenden Stoffes enthalten sind, wie Wasserstoffeinheiten im Molekel desselben. Das NaCl-Molekel entspricht 56,5 Wasserstoffeinheiten, folglich wird die normale Lösung eine 5,65%ige sein. Gewöhnlich nimmt man an, daß dem Seewasser auf $^1/_2$ oder $^3/_5$ verdünnte normale Lösungen solcher Elektrolyten isotonisch sind, deren Molekeln, wie bei NaCl, in der Lösung in zwei Ionen zerfallen. Ich hielt es für überflüssig, den osmotischen Druck des Seewassers für Villefranche s/M. genau zu bestimmen, da die im vorhergehenden Kapitel besprochenen Experimente zur Genüge nachweisen, daß selbst bedeutende Abweichungen von der Isotonie keinen wesentlichen Einfluß auf die Vorticellen ausüben.

In Anbetracht dessen, daß ich in bezug auf die Unschädlichkeit hypotonischer Lösungen über besonders überzeugende Daten verfügte, wählte ich von den zwei in Frage kommenden Werten den geringeren und bediente mich in der Regel der um die Hälfte verdünnten normalen NaCl-Lösung ($^1/_2$-no. NaCl). In den Fällen, wo ich die etwas stärkere Lösung $^3/_5$-no. NaCl benutzte, konnte ich keinen Unterschied feststellen.

5. und 6. Experiment.

28. VI. 10. Mein erstes Experiment wurde auf folgende Weise unternommen. Ich brachte mehrere Stämme von *Z. alternans* in ein Uhrgläschen mit 0,5-no. NaCl. Nach Verlauf einer halben Stunde erweisen sich alle Köpfe als losgerissen, in den Seitenästen ist das Kinoplasma in Tropfen zerfallen, der Hauptstamm ist spiralig zusammengerollt.

Zur Kontrolle dieses Experiments (am selben Tage) wurde ein kräftiges unversehrtes Exemplar von *Z. alternans* in einem großen Tropfen Seewassers auf einen Objektträger gebracht und ununterbrochen unter dem Mikroskop beobachtet. Die Vorticelle befand sich in einem etwas erregten Zustande und reagierte auf die geringsten Stöße durch mehrmalige Kontraktion pro Minute. Nach Verlauf von 15 Minuten keinerlei Veränderungen. Um 12 U. 45 Min. wurde der Stock nach Abspülen in 0,6-no. NaCl in einen großen Tropfen dieser Lösung übertragen. Im Laufe der 3 ersten Minuten erhöhte Kontraktilität, dann völlige Einstellung der Bewegungen; ein Kopf nach dem andern wird abgeworfen; nach und nach rollt sich der Stiel in admortaler Kontraktion zusammen, streckt sich dann unter gleichzeitigem Zerfall des Kinoplasmas in Tropfen gerade. 12 U. 55 Min. ist das ganze Kinoplasma zerfallen (diesen Moment werde ich der Kürze halber im folgenden mit † bezeichnen).

Ich habe diese Experimente mehrmals auf die verschiedenartigste Weise wiederholt, doch stets mit dem gleichen Resultat: die in dem Seewasser isosmotische NaCl-Lösungen übertragenen Vorticellen starben ab; vorher wurden einige Köpfe stark vacuolisiert, bliesen sich auf und wurden abgeworfen, der Stiel büßte seine Reizbarkeit ein, rollte sich in admortaler Kontraktion zusammen und streckte sich dann aus, mit gleichzeitigem Zerfall des Kinoplasmas in Tropfen. Die ganz unter denselben Bedingungen in Seewasser untergebrachten Kontrollexemplare (in Uhrgläsern, in offenen Tropfen auf dem Objektträger, bzw. unter dem Deckglas) erlitten im Laufe desselben Zeitraums keinerlei Veränderungen. Um meinen Experimenten einen qualitativen Charakter zu verleihen, arbeitete ich folgende Form derselben aus. Mehrere Stöcke von *Z. alternans* wurden (nach Abspülen) in einen großen Tropfen 0,5—0,6-no. NaCl gebracht und mit einem Deckglase bedeckt. Unter diesen Bedingungen blieben die Stöcke im Seewasser im Laufe mehrerer Tage nicht nur am Leben, sondern ganz normal, natürlich wenn sie in der feuchten Kammer vor dem Austrocknen geschützt waren.

7. Experiment.

5. VII. 10. 10 U. 50 Min. Vm. Fünf Exemplare von *Z. alternans* (A, B, C, D, E) sind in 0,5-no. NaCl untergebracht. Nach einer Reihe energischer Kontraktionen hören die Bewegungen auf, doch reagieren die Tiere auf Stöße durch Kontraktion. 10 U. 58 Min. An allen Exemplaren ist ein oder mehrere Köpfe abgestoßen. 11 U. 2 Min. A fast völlig kopflos, bei den übrigen die Köpfe aufgebläht. Admortale Kontraktion des Stammes und Zerfall des Kinoplasmas in Tropfen. 11 U. 5 Min. B †, C, D und E noch am Leben, ausgestreckt, reagieren schwach auf Reize. 11 U. 10 Min. Im oberen Teil der Stämme D und E ist das Kinoplasma in Tropfen zerfallen, die untere, durch die Kontraktionsknickung getrennte Hälfte ist noch gestreckt, reagiert jedoch nicht mehr auf Stöße. C noch kontraktil, schwach reizbar. 11 U. 15 Min. Die Stämme C und E in völliger admortaler Kontraktion; der Stamm D in seinem unteren Teil noch gestreckt. 11 U. 20 Min. C †. 11 U. 25 Min. E †. 11 U. 35 Min. D in admortaler Kontraktion und †.

Im eben geschilderten Experiment tritt die Ablösung der aufgeblähten Köpfe gleichzeitig bei allen fünf Exemplaren ein — nach 8 Min. nach der Übertragung in NaCl; das Eintreten des Zerfalls des Kinoplasmas schwankt jedoch zwischen 12 Min. (*A*) und 45 Min. (D) — im Mittel 27 Min. Fraglich ist nun: womit hängt diese Verschiedenheit zusammen, mit der individuellen Eigenart der Stöcke oder damit, daß sich dieselben in verschiedenen Bedingungen befanden? Die eine oder andre Kolonie kann nicht genügend vom Seewasser befreit unter das Deckglas gelangen. Um dies zu vermeiden, muß die Abspülung in NaCl eine besonders sorgfältige sein. Ich stellte meist vier bis fünf Uhrgläser mit je 5—10 ccm der NaCl-Lösung bereit und übertrug mit der Pipette die für das Experiment bestimmten Kolonien nacheinander aus einem dieser Gläser in das andre, wobei ich jedesmal so wenig wie möglich von der Flüssigkeit mit der Pipette aufnahm und nach Übertragung des Objekts in die Lösung dieselbe jedesmal sorgfältig umrührte. Doch muß man dabei im Auge behalten, daß diese ganze Operation so schnell wie möglich vorgenommen werden muß, da die Wirkung von NaCl noch vor Ablauf der ersten 10 Min. sich fühlbar macht. Wenn man sich an diese Vorsichtsmaßregel hält, kann man einförmigere Resultate in jedem einzelnen Experiment erzielen, doch bei Vergleich der Resultate zweier Experimente tritt stets eine größere oder geringere Verschiedenheit zutage, was die Richtigkeit der Annahme, daß diese Verschiedenheit nicht so sehr von der individuellen Beschaffenheit der Stöcke, als von den Bedingungen, denen sie ausgesetzt sind, abhängt, bestätigt. Von den zahlreichen Experimenten, die von einer besonders sorgfältigen Abspülung begleitet wurden, will ich die Resultate zweier von verschiedenem Zahlenwert in Form einer Tabelle zusammenstellen.

8. Experiment.

5. VII. 10. 2 U. 30 Min. sind acht Kolonien von *Z. alternans* in 0,5-NaCl gebracht.

	Bis zum Abfallen des ersten Kopfes	Bis †
A	zwischen 6 und 9 Min.	etwa 17 Min.
B	5 Min.	» 16 »
C	5 »	16 Min.
D	zwischen 6 und 9 Min.	13 »
E	5 Min.	etwa 22 Min.
F	5 »	13 Min.
G	zwischen 6 und 9 Min.	13 »
H	» 6 » 9 »	14 »
Mittel	etwa 6—7 Min.	15—16 Min.

Da es nicht möglich ist, bei einer größeren Anzahl untersuchter Exemplare dieselben gleichzeitig zu verfolgen und auf diese Weise genau den Moment der Ablösung des ersten Kopfes und des Zerfalls des Kinoplasmas festzustellen, sehe ich mich genötigt, diesen Moment annähernd anzugeben und die Zahlen mit »zwischen« oder »etwa« zu bezeichnen.

9. Experiment.

7. VII. 10. 11 U. 17 Min. Vm. Vier Exemplare sind in 0,5-no. NaCl gebracht.

	Bis zum Abfallen des ersten Kopfes	Bis zum Zerfall des Kinoplasmas †
A	18 Min.	23 Min.
B	13 »	34 »
C	13 »	23 »
D	18 »	23 »
Mittel	15,5 Min.	26 Min.

Die Resultate der Experimente 8 und 9 können als äußerste Werte für die Wirkung von NaCl angesehen werden. Je vollständiger und schneller es gelingt das Seewasser wegzuspülen, desto schneller macht sich die giftige Wirkung des NaCl fühlbar[1]).

[1]) Meine späteren Untersuchungen (vom Jahre 1911) haben festgestellt, daß die Ursache dieses Unterschieds hauptsächlich in der Temperaturdifferenz liegt, da die Steigung der Temperatur auf 10° C die Reaktionsgeschwindigkeit ungefähr verdoppelt. Bemerkung beim Druck.

b) Zweite Serie von Experimenten. Wirkung der Zusätze von Seewasser zur NaCl-Lösung.

Die giftige Wirkung des Chlornatriums erscheint immer auf den ersten Blick paradox und nichts ist natürlicher, als nach einem Fehler in den Experimentsbedingungen zu suchen. Vielleicht liegt die Ursache des Absterbens der Vorticellen nicht im Ersatz der Seewassersalze durch chemisch reines Chlornatrium, sondern im Wechsel der Reaktion oder der Menge von O und CO^2 in der Lösung? Die Reaktion der Lösungen war jedoch bei ihrer Prüfung durch Lackmuspapier eine ebenso neutrale wie die des Seewassers. Durch Schütteln der Lösung mit Luft wird eine durchaus vollständige Durchlüftung erzielt. Möglicherweise war das Salz durch irgendeinen zufälligen Zusatz vergiftet?

Um diese und ähnliche Fragen aus dem Wege zu schaffen, unternahm ich eine Reihe folgender Experimente. In der NaCl-Lösung, die eine giftige Wirkung auf die Vorticellen ausübte, wurde eine geringe Menge Seewasser hinzugefügt und die Vorticellen wurden dann in diese Mischung gebracht. Würde das Absterben der Tiere in der NaCl-Lösung durch eine der oben erwähnten Ursachen hervorgerufen, so könnte ein unbedeutender Zusatz von Seewasser die giftige Wirkung der NaCl-Lösung wohl kaum abschwächen.

10. Experiment.

1. VII. 10. Mehrere Kolonien von *Z. mucedo* sind in eine Mischung von 10 ccm 0,5-no. NaCl + 10 ccm Seewasser gebracht ($^1/_2$ Seewasser). Am folgenden Tage erwiesen sich sämtliche Vorticellen am Leben und normal; die Kontraktion ist normal, die Stöcke reagieren auf Reize, die Wimpern der Köpfe sind in Arbeit. Im Kontrollexperiment erwiesen sich die gleichzeitig in 20 ccm 0,5-no. NaCl gebrachten Stöcke am folgenden Morgen als abgestorben; sämtliche Köpfe waren abgeworfen, das Kinoplasma in Tropfen zerfallen.

11. Experiment.

5. VIII. 10. 11 U. 47 Min. Fünf Exemplare von *Z. alternans* sind unter dem Deckglase in eine Mischung von 4 Teil. 0,5-no. NaCl + 1 Teil Seewasser ($^1/_5$ Seewasser) gebracht. 12 U. 10 Min. Alle Stöcke normal, die Köpfe unversehrt, die Wimpern der meisten in Arbeit. 12 U. 20 Min. Bei allen haben sich die Köpfe zusammengezogen, die Wimpern sind nur im Pharynx in Tätigkeit. Die Stiele sind ausgestreckt, reagieren auf Reize jedoch durch energische Kontraktion. 12 U. 35 Min. Bei B und C mehrere Köpfe abgeworfen. 12 U. 40 Min. Bei E ein Kopf abgefallen. An A haben sich viele Köpfe von neuem geöffnet und die Wimpern sind in Arbeit begriffen. 1 U. 10 Min. D hat viele Köpfe verloren, in admortaler Kontraktion. 1 U. 12 Min. D †. 1 U. 30 Min. E†. B ist bei Reizen in seinem mittleren Drittel noch kontraktionsfähig, in den beiden äußeren ist das Kinoplasma in Tropfen zerfallen. C hat fast alle Köpfe eingebüßt,

der Stiel ist jedoch noch unversehrt und reagiert auf Reize. 2 U. B †. An C ist der größte Teil des Stieles zerfallen, das Oberende desselben ist jedoch noch unversehrt. 2 U. 5 Min. C †. 3 U. 15 Min. A ist noch unverändert, die Wimpern arbeiten normal. 4 U. A hat einen Kopf verloren. 4 U. 20 Min. A in admortaler Kontraktion. 4 U. 40 Min. A †.

	Bis zum Verlust des ersten Kopfes	Bis †
A	253 Min.	293 Min.
B	48 »	133 »
C	48 »	138 »
D	83 »	85 »
E	53 »	103 »
Mittel	97 Min.	150 Min.

12. Experiment.

5. VII. 10. 12 U. 15 Min. Fünf Kolonien von *Z. alternans* (nach sorgfältigem Ausspülen) in eine Mischung von 10 Teil. 0,5-no. NaCl + 0,5 Teil. Seewasser ($^1/_{20}$ Seewasser) gebracht. Zwei Kolonien haben sich unter dem Deckglase befreit und sind deshalb nicht mit in Betracht gezogen. Der Zerfall des Kinoplasmas findet noch etwa 4 Stunden teilweise unter Einfluß eines zufälligen Druckes auf das Deckgläschen, etwa nach $3^1/_2$ Stunden nach Anfang des Experiments, statt.

	Bis zum Verlust des ersten Kopfes	Bis †
A	165 Min.	235 Min.
B	185 »	225 »
C	—	225 »

13. Experiment.

5. VII. 10. 4 U. 45 Min. Vier Kolonien von *Z. alternans* sind in 10 ccm 0,5-NaCl + 3 Tropfen = 0,1 ccm Seewasser ($^1/_{100}$ Seewasser) gebracht. Das Experiment mußte nach $1^1/_2$ Stunden unbeendet unterbrochen werden, wobei zwei Kolonien noch am Leben und mit unversehrten Stämmen blieben.

	Bis zum Verlust des ersten Kopfes	Bis †
A	15 Min.	> 90 Min.
B	10 »	20 »
C	15 »	> 90 »
D	10 »	65 »

Die Resultate der eben besprochenen Serie von Experimenten lassen an Klarheit nichts zu wünschen übrig. Der Zusatz einer ganz minimalen Menge von Seewasser übt einen ganz ausgesprochenen Einfluß auf die giftigen Eigenschaften der NaCl-Lösung aus: statt der üblichen 15 bis 20 Min. in der reinen NaCl-Lösung bleiben die Vorticellinenstiele bei einem Zusatz von nur 1% Seewasser länger als $1^1/_2$ Stunden erhalten. Dieser Umstand betont vor allem die Notwendigkeit eines sorgfältigen Abspülens des Seewassers zur Bestimmung der Wirkung der reinen NaCl-Lösung und wirft einiges Licht auf die etwas bunten Resultate bei Fehlen eines solchen Abspülens. Zweitens ist es sicher, daß die giftigen Eigenschaften der reinen NaCl-Lösung nicht von der Reaktion der Lösung oder von der Menge CO_2 und O abhängig sind, da ein 1%iger Zusatz von Seewasser keine wesentliche Veränderung dieser Werte verursachen kann. Eine Wirkung übt augenscheinlich die chemische Zusammensetzung des Seewassers aus, mit welchem in die NaCl-Lösung Ionen von K, Ca, Mg, SO_4 und CO_2 hineingebracht werden. Das Fehlen der einen oder andern dieser Ionen veranlaßt augenscheinlich die giftige Wirkung von NaCl.

Um die Frage zu lösen, welche dieser Ionen die giftige Wirkung von NaCl aufheben, stellte ich eine Reihe von Experimenten an, indem ich der dem Seewasser isosmotischen NaCl-Lösung verschiedene Zusätze gleichfalls isosmotischer Lösungen verschiedener Salze beifügte und die Wirkung dieser Mischungen auf die Vorticellen studierte. Die erste Gruppe bilden die Experimente, welche die Wirkung der Kationen von Ca, Mg, K usw., die in Form von Chlorsalzen hinzugesetzt wurden, erhellen sollten. Die zweite Gruppe bilden die Experimente über die Wirkung der verschiedenen Anionen.

c) Dritte Serie von Experimenten: Wirkung der Ca-Ionen in der NaCl-Lösung.

Die Lösungen wurden folgendermaßen zubereitet. Ich benutzte eine normale Lösung des Merckschen Chlorcalciums (pro analysi) und fügte die eine oder andre Menge derselben der 0,5-no. NaCl-Lösung hinzu, wobei ich in dem Falle, wenn der osmotische Druck der Lösung dabei wesentlich erhöht wurde, dieselbe mit destilliertem Wasser verdünnte. Die Stärke der Mischung wird weiter unten in Beziehung zum Ca-Gehalt in Teilen der normalen $CaCl_2$ angegeben. Alles zum Experiment verwandte Geschirr wurde sorgfältig mit destilliertem Wasser abgespült. Die Lösung wurde durch Schütteln natürlich durchlüftet. Vor Übertragung der Objekte in Tropfen der Versuchsflüssigkeit unter das Deckglas, wurden dieselben

nacheinander in fünf Uhrgläsern (etwa 5 ccm) in derselben Lösung abgespült, wobei sie aus einem Glase in das andre mit einem möglichst geringen Quantum der Flüssigkeit übertragen wurden, wonach die Flüssigkeit sorgfältig umgerührt wurde. Setzen wir voraus, daß bei der Übertragung der Objekte aus dem Seewasser in 5 ccm der Lösung in die letztere 0,05 ccm Seewasser mit herübergebracht wurde, daß dasselbe bei der Übertragung in jedes neue Glas der Fall ist, so erhalten wir im fünften Glase, bei jedesmaliger völliger Durchmischung einen Zusatz von 10^{-10} Seewasser. Eine solche Reinheit zu erreichen ist allerdings wohl kaum möglich: eine völlige Durchmischung ist kaum zu erwarten, besonders da das Seewasser im Zwischenraum zwischen der äußeren Hülle und dem Myonem der Stiele, ebenso wie möglicherweise auch in den kontraktilen Vacuolen der Vorticellen zurückgehalten wird. Infolgedessen kann es kaum wunderbar erscheinen, daß die Zahlenwerte sowohl in dieser, als auch in den beiden vorhergehenden und in allen folgenden Serien von Experimenten innerhalb jedes einzelnen Experiments variieren, ebenso wie die mittleren Werte in zwei parallelen Experimenten etwas verschieden sind. Doch sind diese Unterschiede nicht besonders erheblich und infolgedessen sind die für jedes Experiment erhaltenen mittleren Werte durchaus miteinander vergleichbar. Ich gebe zuerst in der nebenstehenden Tabelle eine allgemeine Übersicht über alle diesbezüglichen Experimente und gehe dann näher auf einige derselben ein.

14.—23. Experiment.

Wirkung der Ca-Ionen in der NaCl-Lösung.

Nr. des Experiments	Datum	Konzentration d. $CaCl_2$ in Teilen der no.-Lösung	Anzahl der Stöcke	Zeit bis zum Zerfall des Kinoplasmas, in Minuten	
				a) Einzelne Stöcke	b) Mittel
14	9. VII.	0,2	6	50, 75, 97, 98, 155, 200	110
15	22. VII.	0,1	8	60, 70, 75, 85, 85, 105, 180, 195	107
16	7. VII.	0,04	5	110, 110, 140, 140, 140	128
17	7. VII.	0,03	5	95, 100, 100, 110, 110	103
18	6. VII.	0,025	6	90, 90, 95, 105, 113, 170	109
19	6. VII.	0,025	5	150, 160, 160, 170, 175	163
20	22. VII.	0,01	12	30, 55, 55, 60, 80, 80, 95, 102, 120, 123, 127, 128	88
21	23. VII.	0,001	8	57, 70, 80, 100, 106, 117, 117, 150	98
22	9. VII.	0,0005	6	85, 130, 145, 145, 145, > 145	133
23	11. VII.	0,0001	6	10, 14, 14, 16, 16, 20	15

Zur Erläuterung dieser Tabelle benötigt es einiger Bemerkungen.

19. Experiment. Sowohl der Mittelwert (163), als auch die für die einzelnen Stöcke erhaltenen Werte sind verhältnismäßig hoch, was zur Vermutung Anlaß geben kann, daß eine Übertragung von Seewasser stattgefunden hat; diese Voraussetzung erscheint um so wahrscheinlicher, als in diesem Experiment das Seewasser nur in zwei, statt der sonst üblichen vier Zwischenlösungen abgespült wurde. Als direkter Beweis dient der Umstand, daß an mehreren Kolonien während dieses Experiments die Wimpern lange Zeit über ihre Arbeit nicht einstellten. Im folgenden Kapitel werden wir sehen, daß das Schlagen der Wimpern nur bei Vorhandensein von Mg-Ionen möglich wird, die hier augenscheinlich nur aus dem Seewasser herstammen können.

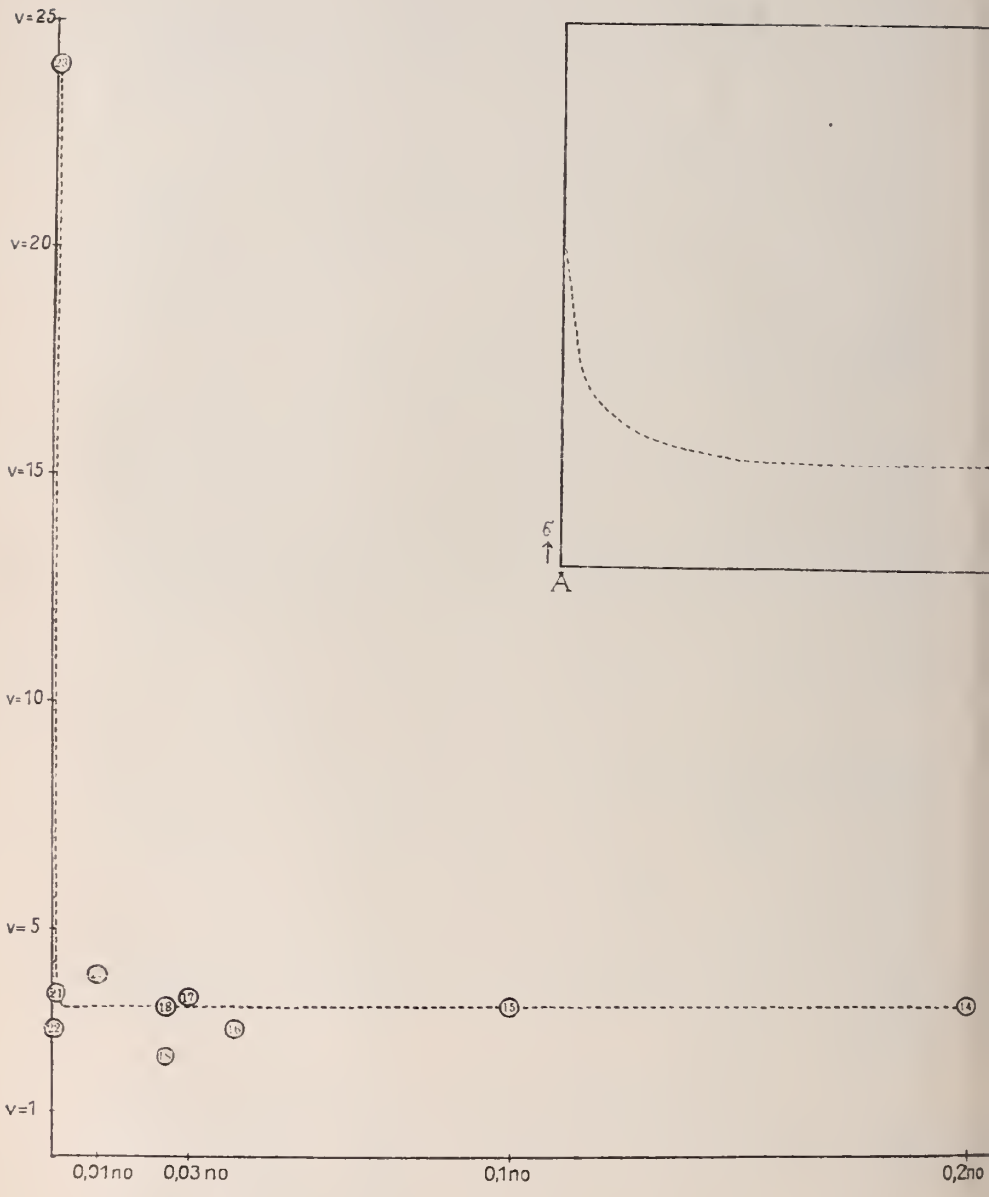
Das 20. Experiment ergibt buntere Resultate als die übrigen. In die Augen fallend sind die Werte: 30, 55, 55. Diese drei Zahlen beziehen sich auf bei der Loslösung ein wenig beschädigte Stöcke. Es wäre wohl richtiger, dieselben ganz aus den Resultaten des Experiments auszuschließen und dann würde der Mittelwert von 88 bis auf 102 anwachsen. Während des Experiments hielt ich es für überflüssig, die im folgenden Kapitel zu erörternden genaueren Beobachtungen über das Verhalten dieser nicht völlig normalen Stöcke anzustellen, doch hier nehme ich die betreffenden Zahlenwerte trotzdem auf, um mich näher an meine Tagebücher zu halten.

22. Experiment. Zur Erklärung der ziemlich hohen Werte muß ich Folgendes erwähnen: während des Experiments trat die schwache Konzentration des Ca in einem frühen und völligen Verlust aller Köpfe zutage. Während der zweiten Hälfte des Experiments bleiben fast nur die nackten Stiele übrig, die sich jedoch kontrahieren und auf äußere Reize reagieren. Die admortale Kontraktion tritt auch früh ein, im Mittel nach 15 Minuten, doch verläuft † und der Zerfall des Kinoplasmas in Tropfen äußerst langsam. Bei einer höheren Konzentration des Ca tritt der Zerfall in Tropfen bedeutend früher, und zwar nach Verlauf von 2—10 Minuten ein und nur im 21. Experiment, welches gleichfalls eine sehr schwache Lösung betrifft (0,001), ließ sich dieselbe Erscheinung beobachten, nämlich eine dauernde (im Mittel 18 Minuten, in einzelnen Fällen von 5—65 Minuten dauernde) admortale Kontraktion der völlig nackten Stiele.

23. Experiment. Die für diese äußerst schwache Lösung (0,0001-no. $CaCl_2$) erhaltenen Werte unterscheiden sich kaum von den für reine NaCl-Lösung erzielten. Ein gewisser Unterschied in den Resultaten des Experiments ließ sich jedoch trotzdem erkennen. Im Gegensatz zur Wirkung der reinen NaCl-Lösung wurden hier sämtliche Köpfe verhältnismäßig früh (im Mittel 7 Minuten nach Beginn des Experiments) abgeworfen und es trat die admortale Kontraktion ein, die sich bedeutender als gewöhnlich in die Länge zog (7—13 Minuten). Auf diese Weise erscheinen das völlige Nacktwerden der Stiele und die lange Dauer der admortalen Kontraktion, auf die wir in den zwei vorhergehenden Experimenten hinwiesen, als für schwache Ca-Lösungen charakteristische Erscheinungen, selbst in dem Falle, wenn der Ca-Zusatz zur NaCl-Lösung ein allzu geringer ist, um auf die allgemeine Lebensdauer des *Zoothamnium* einen wesentlichen Einfluß auszuüben.

Wenn wir die Ergebnisse dieser Reihe von Experimenten zusammenfassen, so gelangen wir zu folgendem Schluß: der Zusatz von $CaCl_2$ vermindert in schroffem Grade die giftigen Eigenschaften der reinen NaCl-Lösung. Aus den neun, verschiedene Konzentrationen von $CaCl_2$ (von 0,2-no. bis 0,0005-no.) betreffenden Experimenten erhalten wir für die mittlere Dauer bis zum Zerfall des Kinoplasmas in

Fig. 12



Einfluß der Konzentration der Ca-Ionen in NaCl-Lösung auf die Geschwindigkeit des Kinoplasmazerfalls bei *Z. alternans*. Oben rechts die Kurve, welche den Zusammenhang zwischen Konzentration und Adsorption zeigt (Freundlich, Kapillarchemie, S. 59).

Tropfen einen Wert von 115 Minuten, statt der 15—26 Minuten, die wir als äußerste Werte für die Wirkung der reinen NaCl-Lösung angenommen haben. Schwankungen dieses Mittelwerts von 115 Minuten nach beiden Richtungen lassen sich sowohl in schwächeren, als auch in stärkeren Lösungen erkennen, wobei selbst die geringste der erhaltenen Zahlen (88 Min.) sich schroff von der größten in der Reihe der Experimente mit reinen NaCl-Lösungen (26 Min.) abhebt.

Besondere Aufmerksamkeit erfordert der Umstand, daß eine verzögernde Wirkung schon äußerst schwachen $CaCl_2$-Lösungen (0,0005-no.) zukommt, in denen der Zerfall der Molekeln in Ionen schon als ein mehr oder weniger vollständiger angesehen werden darf. Daraus geht deutlich hervor, daß wir es hier nicht mit einer chemischen Wirkung des $CaCl_2$, sondern mit der Wirkung der Ca-Ionen zu tun haben.

Unter den vorhandenen Experimentsbedingungen liegt keine Möglichkeit vor, die Abhängigkeit der verzögernden Wirkung der Ca-Ionen von der Konzentration dieser Ionen in den Lösungen von 0,2-no. bis 0,0005-no. nachzuweisen. Augenscheinlich ist zur völligen Entfaltung der Wirkung des Ca das Vorhandensein in der Lösung nur einer gewissen minimalen Anzahl von Ca-Ionen notwendig. Die Vermehrung dieser Anzahl in stärker konzentrierten Lösungen übt keinen augenfälligen Einfluß aus, während eine Herabsetzung unter das Minimum (bis 0,0001-no.) die verzögernde Wirkung des Ca ganz aufhebt, wobei die verzögernde Wirkung des Ca jedoch am längsten in der Dauer der admortalen Kontraktion bis zum Zerfall des Kinoplasmas in Tropfen zutage tritt. Die Beziehung zwischen der Konzentration des Ca und der verzögernden Wirkung der Lösung ist durch das Diagramm Fig. 12 S. 382 veranschaulicht, bei dessen Konstruktion auf der Abszisse die Konzentration, auf der Ordinate die mittlere Geschwindigkeit des Zerfallprozesses des Kinoplasmas in Tropfen im betreffenden Experiment eingetragen wurde. Um die Geschwindigkeitswerte zu bekommen, wurde als willkürliche Einheit eine solche Geschwindigkeit erwählt, mit welcher der Zerfallsprozeß 6 Stunden = 360 Minuten dauert. Wenn wir diese Größe als Einheit annehmen, so wird z. B. in dem Experiment Nr. 14 die mittlere Geschwindigkeit $v = \frac{360}{110} = 3{,}3$; in dem Experiment Nr. 23 $v = \frac{360}{15} = 24$ usw.

d) Vierte Serie von Experimenten: Einfluß der Mg-Ionen in der NaCl-Lösung.

Zur Anfertigung der normalen $MgCl_2$-Lösung bezog ich von der Firma Merck das kristallinische Salz $MgCl_2\,6\,H_2O$; in Hinsicht auf diese

Formel wurde auch die Berechnung der Lösung ausgeführt. Es ist wohl möglich, daß die auf diese Weise hergestellte normale Lösung eine etwas herabgesetzte Konzentration besaß. Doch konnte dies nicht wesentlich auf die Exaktheit der Experimente einwirken, da dieser Umstand auf den osmotischen Druck der ganzen Lösung nur einen ganz minimalen Einfluß haben konnte; ich nehme an, daß eine 0,4-no. $MgCl_2$-Lösung dem Seewasser isotonisch ist, doch hat man dies nur bei Anwendung der stärksten Lösung, 0,1-no. $MgCl_2$ und höher, im Auge zu behalten.

24.—29. Experiment.

Wirkung der Mg-Ionen in der NaCl-Lösung.

Nr. des Experiments	Datum	Konzentration d. $MgCl_2$ in Teilen der no.-Lösung	Anzahl der Stöcke	Zeit bis zum Zerfall des Kinoplasmas, in Minuten	
				a) Einzelne Stöcke	b) Mittel
24	26. VII. 10	0,1	11	45, 65, 65, 68, 75, 75, 75, 115, 121, 140, 195	94
25	11. VII. 10	0,03	8	105, 125, 180, 180, 180, 180, 195, $>$195.	168
26	12. VII. 10	0,01	7	125, 125, 155, 295, 295, 390	230
27	26. VII. 10	0,01	8	60, 70, 110, 110	88
28	11. VII. 10	0,003	6	52, 52, 75, 125, 125, 125	92
29	12. VII. 10	0,001	7	23, 36, 38, 68, 68, 68, 68	53

Anmerkung.

25. Experiment. Das Experiment mußte nach 195 Minuten unterbrochen werden, als einer der Stöcke noch ein mehr oder weniger normales Aussehen zeigte.

26. Experiment. Beim Experiment war besonders das frühzeitige Abwerfen der Mehrzahl der Köpfe bemerkenswert, welches lange vor dem Verlust der normalen Kontraktilität seitens der Stiele stattfand. Bis zum Verlust aller Köpfe verliefen vom Beginn des Experiments 90—215 Minuten, im Mittel 137 Minuten. Die Dauer der admortalen Kontraktion war gleichfalls sehr verzögert — bis zu 45 Minuten, wodurch zum größten Teil die Höhe des Mittelwerts (230) bedingt wird. Bei einem Exemplar, bei dem sich die Kontraktion bereits nach 215 Minuten einstellte, war das Kinoplasma noch nach 24 Stunden nicht in Tropfen zerfallen; dieses Exemplar konnte bei der Bestimmung des Mittelwerts gar nicht in Berechnung gezogen werden.

27. Experiment. Vier von den Versuchsstöcken erstarrten in admortaler Kontraktion und der Zerfall ihres Kinoplasmas in Tropfen blieb aus. Zur Charakteristik der in diesem Experiment erzielten Resultate können die Zahlenwerte des bis zum Eintritt der admortalen Kontraktion verstrichenen Zeitraumes dienen: 60, 60, 60, 60, 60, 75, 90, 110 = im Mittel 72 Minuten.

28. Experiment. Sehr frühzeitig (bei allen Exemplaren nach Verlauf von 20 Minuten nach Beginn des Experiments) sind fast alle Köpfe abgeworfen. Die admortale Kontraktion tritt nach 32—60 Minuten, im Mittel nach 44 Minuten ein. Die Zeitdauer der admortalen Kontraktion bis zum völligen Zerfall des Kinoplasmas ist eine sehr bedeutende: von 20—70 Minuten, im Mittel 48 Minuten.

29. Experiment. Sämtliche Kolonien verlieren ihre Köpfe nach 20—25 Minuten. Dauer der Kontraktion keine so bedeutende wie in den Experimenten 26, 28, 29.

Die Resultate der Experimente mit dem Einfluß der Mg-Ionen auf die für die Vorticellen giftigen Eigenschaften der NaCl-Lösungen decken sich, was die Zahlenwerte anbetrifft, nahezu mit denen der vorhergehenden Serie. Für die sechs, die $MgCl_2$-Lösungen von 0,1 bis 0,001-no. betreffenden Experimente erhalten wir ein Mittel von 121 Minuten — der Zeitraum bis zum Zerfall des Kinoplasmas in Tropfen. Augenfällig sind jedoch die größeren Schwankungen in den Resultaten: Maximum — 230 Minuten, Minimum — 53 Minuten. Doch auch dieses, die schwächste der erprobten $MgCl_2$-Lösungen betreffende Minimum ist doppelt so hoch wie das Maximum bei Einwirkung der reinen NaCl-Lösung (26 Min.). Die Herabsetzung der Konzentration des Mg bis auf 0,01 und darunter hat einen frühen Verlust der Köpfe und die Verzögerung der Dauer der admortalen Kontraktion zur Folge. In den Experimenten mit Ca ließen sich diese beiden Erscheinungen erst bei einer Herabsetzung der Konzentration bis auf 0,001-no. und darunter erkennen.

e) Fünfte Serie von Experimenten: Wirkung der Sr-, Ba- und Hg-Ionen in der NaCl-Lösung.

Die Ca- und Mg-Ionen bilden einen gewöhnlichen natürlichen Bestandteil des Seewassers. Wir haben gesehen, daß bereits eine ganz minimale Anzahl dieser Ionen die giftige Wirkung des NaCl — des Hauptbestandteils des Seewassers — bedeutend abschwächt. Die Frage erscheint nur natürlich, ob nicht die Ca- und Mg-Ionen in ihrer hemmenden Wirkung durch andre zweiwertige Kationen, die des Sr, Ba, Hg usw. ersetzt werden können. Unter den Bedingungen, in denen ich arbeitete, war die Auswahl der chemisch reinen Salze eine ziemlich beschränkte. Erst zum Schluß meines Aufenthalts in Villefranche gelang es mir, reines $SrCl_2$ zu bekommen und meine Zeit war zu knapp gemessen, um eine genügende Anzahl von Zahlenwerten zu erhalten. Ich konnte mich nur qualitativ davon überzeugen, daß eine 0,01-no. und stärkere Lösungen dieses Salzes eine hemmende Wirkung auf die giftigen Eigenschaften des NaCl ausüben. Auf Grund gewisser komplimentärer Merkmale erweist sich die Wirkung der Sr-Ionen mit derjenigen der Mg-Ionen als übereinstimmend.

Besonders verlockend erschien es mir, die Wirkung der Ba- und Hg-Ionen auszuprobieren. Die Chlorverbindungen dieser Metalle haben in starken Lösungen eine sehr giftige Wirkung auf die Vorticellen, wie auch überhaupt auf alle lebenden Zellen. Beim Absterben in diesen

starken Lösungen quillt das Kinoplasma des Stieles auf, der Stiel rollt sich zusammen und wird in diesem Zustande fixiert. Augenscheinlich hat das Kinoplasma beim Gerinnen des Eiweißes Zeit, in den Gelzustand vor dem Zerfallen überzugehen. Um die hemmende Wirkung der Ba- und Hg-Ionen zu studieren, ist die Verwendung äußerst schwacher Lösungen notwendig.

30. Experiment.

12. VII. 10. 4 U. 5 Min. Nm. Vier Stöcke von *Z. alternans* werden nach Ausspülen in vier Zwischenbädern in 0,5-no. NaCl + 0,01-no. $BaCl_2$ gebracht. 4 U. 20 Min. Die Stöcke reagieren bereits nicht mehr auf äußere Reize, die Stämme der einen Kolonien befinden sich im Zustand der Diastole, die der andern in dem der Systole. Die Köpfe sind aufgequollen und weisen große Vacuolen auf. Die Wimperarbeit ist eingestellt. An A und D sind mehrere Köpfe abgefallen. 4 U. 30 Min. A, C und D haben fast alle Köpfe verloren, an B sind dieselben jedoch noch alle vorhanden. Bei allen vier Kolonien hat die admortale Kontraktion bereits eingesetzt, es haben sich Kontraktionsknickungen gebildet, die sich langsam verschieben, wobei vom Kinoplasma sich ein Tropfen nach dem andern ablöst. 5 U. 10 Min. C †. 5 U. 20 Min. A †. 5 U. 40 Min. — bei B. und D die letzten Spuren der Kontraktionswelle. 5 U. 43 Min. D †. Bei B ist die letzte Kontraktionsknickung unausgestreckt geblieben.

31. Experiment.

13. VII. 10. 1 U. 30 Min. Vier Kolonien von *Z. alternans* sind nach Abspülen in vier Zwischenbädern in 0,5-no. NaCl + 0,001-no. $BaCl_2$ gebracht. 1 U. 45 Min. Sämtliche Kolonien haben ihre Köpfe abgeworfen, sind unbeweglich. Bei C und D beginnt die Kontraktionswelle sich geltend zu machen. 2 U. D †. Bei A und B beginnt die Kontraktion der Seitenäste. 2 U. 40 Min. Bei A, B und C ist das Kinoplasma in einem Teile des Stammes in Tropfen zerfallen, einige Knickungen sind jedoch noch vorhanden. 3 U. 5 Min. — ohne Veränderung.

32. Experiment.

13. VII. 10. 9 U. 53. Min Vm. Fünf Kolonien sind nach vier Zwischenbädern in 0,5-no. NaCl + 0,0001-no. $BaCl_2$ gebracht. 10 U. Vm. Die Stiele aller Exemplare sind noch unversehrt, bei manchen Kolonien noch kontraktil; alle haben sie mehrere Köpfe verloren. 10 U. 10 Min. Alle Köpfe sind abgeworfen, bei sämtlichen treten Kontraktionsknickungen auf. 10 U. 18 Min. D †. 10 U. 35 Min. C †, B †. Bei A und E die letzten Kontraktionsknickungen. 10 U. 42 Min. A †. 10 U. 47 Min. E †.

Nr. des Experiments	Anzahl der Stöcke	Konzentrat. d. $BaCl_2$-Lösung	Zeit bis zum Abfallen des ersten Kopfes in Minuten		Zeit bis zum Beginn der Kontraktion in Minuten		Zeit bis zum Zerfall des Kinoplasmas in Minuten	
			für d. einzeln. Kolon.	Mittel	für d. einzeln. Kolon.	Mittel	für d. einzeln. Kolon.	Mitt
30.	4	0,01	10, 15, 25, 65	25	25, 25, 25, 25	25	65, 75, 98, >120	>8
31.	4	0,001			15, 15, 15, 15	15	30, andre >95	—
32.	5	0,0001	7, 7, 7, 7, 7	7	14, 17, 17, 17, 17	16	25, 42, 42, 50, 54	4

Fassen wir die Resultate dieser Experimente mit dem Ba zusammen, so erkennen wir, daß die Anwesenheit dieser zweiwertigen Ionen in der NaCl-Lösung den Moment des Eintretens der admortalen Kontraktion so gut wie gar nicht verschiebt. Doch folgt in der reinen NaCl-Lösung auf die Kontraktion der Zerfall des Kinoplasmas äußerst bald, nach 1—2 Minuten. Hier gewinnt dieser Prozeß dagegen den Charakter einer langsam fortschreitenden Kontraktionswelle und wird stark verzögert; in manchen Fällen zerfällt ein Teil des Kinoplasmas unter der Einwirkung stärkerer Ba-Lösungen (0,001 und darüber) nicht in Tropfen, sondern bleibt im Kontraktionsstadium. Es ist von Interesse, daß ein Zusatz einer Lösung 0,0001-no. $BaCl_2$ schon einen deutlich spürbaren Einfluß ausübt und den Prozeß des Zerfalls des Kinoplasmas fast um das Doppelte verlängert (im Mittel 43 Min., statt 16—26 Min. in reiner NaCl-Lösung).

Um die hemmende Wirkung der Hg-Ionen zu studieren, muß man noch verdünntere Lösungen anwenden. Schon ein Zusatz von 0,0001-no. $HgCl_2$ zu 0,5-no. NaCl tötet die Vorticellen vor Ablauf einiger Minuten, wobei die Köpfe abfallen und die Stiele sich stark zusammenrollen und in diesem Zustande, augenscheinlich infolge des Gerinnens der Protoplasmaeiweiße, verbleiben. Bei einer weiteren Verminderung der Konzentration von $HgCl_2$ bis auf 0,00003-no. und 0,00001-no. kommt die chemische Wirkung des Sublimats — das Gerinnen der Eiweiße — augenscheinlich nicht mehr zur Geltung und der Zerfall des Kinoplasmas nach der admortalen Kontraktion wird in den meisten Fällen dadurch nur verzögert.

Datum	Anzahl d. Kolonien	Konzentrat. d. $HgCl_2$-Lösung	Zeit bis zum Abfallen des ersten Kopfes in Minuten		Zeit bis zum Beginn der Kontraktion in Minuten		Zeit bis zum Zerfall des Kinoplasmas in Minuten	
			für einzelne Kolon.	Mittel	für einzelne Kolon.	Mittel	für einzelne Kolon.	Mittel
13. VII.	5	0,00003	10, 10, 10, 10, 10	10	10, 10, 15, 15, 25	15	28, 31, 43, >45, >45	34
13. VII.	2	0,00001	8, 15	11	15, 35	25	25, 50	37

Die Verzögerung des Zerfallprozesses des Kinoplasmas durch den Zusatz von Ba- und Hg-Ionen zu der NaCl-Lösung gemahnt sehr an dieselbe Wirkung der sehr verdünnten Lösungen der Ca- und Mg-Ionen. Wir haben aus den Experimenten 20, 23 für das Ca und Experiment 26, 28 und 24 für Mg erkannt, daß bei der Wirkung solcher NaCl-Lösungen, deren Ca- und Mg-Zusätze ein bestimmtes Minimum nicht erreichen,

gerade eine solche Verzögerung der Periode der admortalen Kontraktion die augenfälligste Erscheinung ist, wie wir sie unter dem Einfluß schwacher Ba- und Hg-Lösungen auftreten sehen.

f) Sechste Serie von Experimenten: Wirkung der K-Ionen in NaCl-Lösungen.

Die Experimente wurden mit Chlorkalium, das gleichfalls von der Firma Merk bezogen war, angestellt und auf dieselbe Weise ausgeführt wie die der drei vorhergehenden Serien.

Im Gegensatz zu den Ca- und Mg-Ionen, ebenso wie zu denen des Sr, Ba und Hg verzögern geringe Zusätze von K-Ionen zu der NaCl-Lösung nicht nur das Eintreten der admortalen Kontraktion nicht, sondern sie wirken sogar beschleunigend auf diese Prozesse.

Im ersten Experiment (35. Experiment) untersuchte ich die Wirkung der Lösung 0,5-no. NaCl + 0,001 KCl. Ich brauchte 10 Minuten, um sechs Kolonien von *Z. alternans* in fünf Zwischenbädern auszuwaschen. Bei der Untersuchung in der letzten Waschlösung, also 10 Minuten nach Beginn des Experiments, erwies sich bei vieren das Kinoplasma der Stiele als bereits zerfallen, die beiden übrigen Stöcke waren noch am Leben, trotzdem sie bereits alle Köpfe eingebüßt hatten, doch waren die Stiele noch unversehrt. Nach 2—3 Minuten trat die Kontraktion der Stiele auch dieser beiden Kolonien ein; bei der einen zerfiel das Kinoplasma gleich darauf in Tropfen, bei der andern dauerte die Kontraktion 10 Minuten lang. Bei keinem einzigen Versuch mit reiner NaCl-Lösung konnte ich einen so frühzeitigen Zerfall des Kinoplasmas in Tropfen erzielen.

Die Resultate des zweiten Experiments (36. Experiment) sind noch augenfälliger. 14. VII., 2 U. 40 Min. brachte ich sechs Kolonien von *Z. alternans* in 0,5-no. NaCl + 0,01-no. KCl, wobei ich bemüht war die Ausspülung in den fünf Zwischenbädern möglichst rasch zu erledigen. Schon bei der Überführung in die zweite dieser Lösungen konnte ich unter der Lupe die beginnende Kontraktion konstatieren. Als ich nach Verlauf von 6 Minuten (2 U. 46 Min.) die Durchmusterung unter dem Mikroskop in Angriff nahm, waren sämtliche Kolonien bereits abgestorben, die Köpfe abgefallen, das Kinoplasma in Tropfen zerfallen.

Dieses Experiment wurde von mir in der gleichen Weise mit ganz demselben Erfolg mehrmals wiederholt, wobei die Stiele sämtlicher Stöcke in der größten Mehrheit der Fälle noch vor Beginn der Beobachtung zerfallen waren. Um den Beginn des Prozesses beobachten zu können, mußten die Experimente primitiver gestaltet werden: und zwar muß man

die Kolonie unter dem Deckglase in Seewasser unterbringen und die bereitgehaltene Lösung unter das Deckglas fließen lassen.

37. Experiment. 14. VII. 3 U. 35 Min. Vier Kolonien von *Z. alternans* sind in Seewasser unter das Deckglas gebracht. Unter letzteres läßt man die Lösung 0,5-no. NaCl + 0,01-no. KCl fließen. Intensive Kontraktion, die Bewegungen werden eingestellt, die Köpfe abgeworfen. 3 U. 42 Min. D †. 3 U. 45 Min. A, B, C in admortaler Kontraktion, kopflos. 3 U. 50 Min. A †, C †. 3 U. 55 Min. B †.

Auf diese Weise ist, trotzdem das Experiment durch den zweifellos vorhandenen Zusatz von Seewasser weniger exakte Resultate ergibt, die mittlere Zeitdauer bis zum Zerfall des Kinoplasmas in Tropfen (14 Min.) geringer als bei Einwirkung der reinen NaCl-Lösung.

Die K-Ionen üben in der NaCl-Lösung eine den Ca- und Mg-Ionen entgegengesetzte Wirkung aus.

g) Siebente Serie von Experimenten: Wirkung dem Seewasser isosmotischer KCl-Lösungen, reiner und mit Zusätzen von Ca-, Mg- und Sr-Ionen.

Da die K-Ionen den NaCl-Lösungen keine Gegenwirkung zeigten, so liegt der Gedanke nahe, alle oben besprochenen Reihen von Experimenten zu wiederholen und nur die Grundlösung von NaCl durch eine KCl-Lösung zu ersetzen. Die erzielten Resultate stimmen jedenfalls in hohem Grade mit den vorhergehenden überein.

38. Experiment. 17. VII. 2 U. 10 Min. Fünf Kolonien von *Z. alternans* sind, nach Auswaschen in fünf Zwischenbädern, in 0,5-no. KCl gebracht. 2 U. 19 Min. Die Köpfe noch unversehrt, die Stiele kontraktil. 2 U. 21 Min. Die Köpfe aller Kolonien beginnen abzufallen. 2 U. 30 Min. In allen Kolonien beginnt die Kontraktion und nach Verlauf einiger Sekunden zerfällt das Kinoplasma in Tropfen und der Stiel streckt sich aus.

Auf diese Weise lassen sich keinerlei wesentliche Unterschiede zwischen der Wirkung dem Seewasser isosmotischer reiner NaCl-Lösungen und ebensolchen KCl-Lösungen erkennen.

Die Wirkung der Ca-Ionen in der KCl-Lösung.

Nr. des Experiments	Datum	Konzentration d. $CaCl_2$ in Teilen der no.-Lösung	Anzahl der Stöcke	Zeit bis zum Zerfall des Kinoplasmas, in Minuten	
				a) für die einzelnen Kolonien	b) Mittel
39	16. VII. 10	0,1	10	(60), (60), 75, 89, 130, 155, 165, > 180, > 180, > 180	> 127
40	15. VII. 10	0,01	7	63, 88, 115, 118, 122, 189, 195	127
41	21. VII. 10	0,001	14	17, 17, 22, 22, 25, 25, 32, 32, 36, 47, 57, 57, 57, 83	38

Anmerkung.

39. Experiment. Als das Experiment nach Ablauf von 3 Stunden unterbrochen werden mußte, waren drei Kolonien noch völlig normal. Andrerseits befanden sich die zwei Kolonien, die die geringsten Werte (60) ergaben, in anormalen Bedingungen — außerhalb des Deckglases, wo sie der Austrocknung ausgesetzt waren. Der Mittelwert muß demgemäß etwas höher berechnet werden. Die admortale Kontraktion findet bald ihren Abschluß (nach etwa $^1/_2$ Minute) im Zerfall des Kinoplasmas.

41. Experiment. Ganz unzweideutig tritt hier die ungenügende Anzahl der Ca-Ionen zur völligen Hemmung zutage. Der mittlere Zeitraum bis zum Abfallen des ersten Kopfes etwa 18 Minuten, bis zum Beginn der admortalen Kontraktion 27 Minuten, die Dauer der admortalen Kontraktion 6—30 Minuten. Alle diese Werte sind bedeutend höher als für reine KCl-Lösung.

Wirkung der Mg-Ionen in der KCl-Lösung.

Nr. des Experiments	Datum	Konzentration d. $MgCl_2$ in Bruchteilen der no.-Lösung	Anzahl der Kolonien	Zeit bis zum Zerfall des Kinoplasmas in Minuten	
				a) für die einzelnen Kolonien	b) Mittel
42	16. VII.	0,1	9	55, 90, 100, 120, 130, 135, 150, 175	121
43	15. VII.	0,01	9	25, 40, 45, 53, 60, 65, 68, 80, 80, 80	57
44	21. VII.	0,001	8	sechs ⟨11; 15, 20	⟨12

Anmerkung.

42. Experiment. Bis zum Abwerfen des ersten Kopfes 50—120 Minuten, im Mittel 86 Minuten, bis zum Beginn der Kontraktion 50—125 Minuten, im Mittel 106 Minuten. Die Kontraktion ist deutlich verzögert, sie dauert 5—15 Minuten.

43. Experiment. Bis zum Abwerfen des ersten Kopfes etwa 10 Minuten. Die admortale Kontraktion verzögert.

44. Experiment. Die Wirkung der Mg-Ionen ist garnicht zu bemerken.

Obwohl ich über eine geringere Anzahl von Beobachtungen über die Wirkung der Ca- und Mg-Ionen in KCl-Lösungen, als in bezug auf NaCl-Lösungen verfüge, so tritt die völlige Übereinstimmung der Resultate doch klar genug hervor. Für Zusätze von 0,01—0,1 Ca zur KCl-Lösung ist der Zeitraum bis zum Zerfall des Kinoplasmas = 127 Minuten und nähert sich dem Mittel der neun Experimente mit NaCl + $CaCl_2$ = 115 Minuten. Für den Zusatz von 0,1 Mg ist der Zeitraum bis zum Zerfall des Kinoplasmas = 121 Minuten; zufälligerweise stimmt diese Zahl völlig mit dem Mittel aus den sechs Experimenten mit Zusätzen von Mg-Ionen zu NaCl-Lösungen überein.

Der Ersatz in der Grundlösung des Chlornatriums durch Chlorkalium macht sich nur in einer Beziehung bemerkbar. Die Zusätze von Ca- und Mg-Ionen müssen in KCl-Lösungen größer sein als in NaCl-Lösungen. Hier ist die verzögernde Wirkung von 0,001-no. $CaCl_2$ schon abgeschwächt

und kommt hauptsächlich in der Ausdehnung der admortalen Kontraktion zum Ausdruck; bei NaCl übt dagegen schon ein Zusatz von 0,0005-no. $CaCl_2$ eine vollständig schützende Wirkung aus.

Zusätze von 0,01-no. Mg zu KCl zeigt eine ebenso abgeschwächte Wirkung wie Zusätze von 0,001 Mg zur NaCl-Lösung; ein Zusatz von 0,001 Mg zur KCl-Lösung ist ganz wirkungslos.

h) Achte Serie von Experimenten: Wirkung dem Seewasser isosmotischer $CaCl_2$-, $MgCl_2$-, LiCl-, NH_4Cl-Lösungen.

Geringe Zusätze von Ca- und Mg-Ionen zu NaCl- und KCl-Lösungen verzögern die zerstörende Wirkung der letzteren. Natürlich genügt dies noch nicht, um a priori zu erwarten, daß reine $CaCl_2$- und $MgCl_2$-Lösungen ganz frei von jeder giftigen Wirkung sein müssen. J. Loeb, dessen Ergebnisse so nahe mit den oben besprochenen Daten über die giftige Wirkung des NaCl und über den Antagonismus zwischen den Na- und K-Ionen einer- und Ca- und Mg-Ionen andrerseits übereinstimmen, neigt der Annahme zu, daß auch die reinen $CaCl_2$- und $MgCl_2$-Lösungen gleichfalls eine giftige Wirkung ausüben, daß jedoch ihr schädlicher Einfluß durch die Gegenwart der ihnen entgegenwirkenden Na und K aufgehoben wird.

Um dem Seewasser isosmotische $CaCl_2$- und $MgCl_2$-Lösungen anzufertigen, bediente ich mich einer 0,4-no.-Lösung dieser Salze (in bezug auf die entwässerten Salze berechnet). Nach Abspülen in mehreren Zwischenlösungen wurden die Kolonien entweder unter dem Deckglase in der feuchten Kammer oder in verschlossenen Glasschalen untergebracht.

45. Experiment. 1. VII. 10. Vier große Kolonien von *Z. mucedo* in 20 ccm 0,4-no. $CaCl_2$-Lösung untergebracht. Nach Verlauf von 24 Stunden ist der eine Stock abgestorben und das Kinoplasma desselben zerfallen. Drei sind noch am Leben, die Stiele in periodischer Kontraktion begriffen, hauptsächlich jedoch im Zustande der Systole.

46. Experiment. 1. VII. 10. 4 U. 17 Min. Drei Kolonien von *Z. mucedo* sind in 0,4-no. $CaCl_2$ unter dem Deckgläschen untergebracht. Während der ersten Minuten — Systole; dann strecken sich die Stiele und kontrahieren periodisch, wobei sie während der Systole zu einer Verzögerung neigen. Die Nacht über bleiben die Gläser in der feuchten Kammer. 2. VII. 10. 11 U. M. Viele Kolonien in ausgezeichnetem Zustande mit unversehrten, wenn auch eingezogenen Köpfen. Selbst an denjenigen Stöcken, an welchen die Mehrzahl der Köpfe beschädigt oder ganz abgeworfen ist, sind die Stiele meistens am Leben und haben ihre normale Kontraktilität bewahrt. 3. VII. 10. Idem. 4. VII. 10. 12 U. Mittags. Sämtliche Kolonien sind abgestorben; bei vielen ist das Kinoplasma der Stiele nicht zerfallen.

47. Experiment. 1. VII. 10. 4 U. 45 Min. Nm. Zwei große und drei kleinere Kolonien von *Z. alternans* sind unter das Deckglas in 0,4 no $CaCl_2$-Lösung gebracht.

Zeigen die Tendenz im Zustande der Systole sich aufzuhalten. 2. VII. $10^1/_2$ U. Vm. Nach der in der feuchten Kammer verbrachten Nacht sind sämtliche Kolonien in ausgezeichnetem Zustande, kontrahieren periodisch. Die Köpfe sind eingezogen, die Wimperbewegung eingestellt. 3. VII. 2 U. Nm. Alle fünf Kolonien mit unversehrtem Kinoplasma. Die Reizbarkeit ist ein wenig herabgesetzt, doch reagiert eine große (A) und zwei der kleinen Kolonien (C u. D) noch deutlich auf Stöße; die andre größere Kolonie hat ihre Kontraktilität eingebüßt; die letzte kleinere Kolonie (E) verhält sich Stößen gegenüber lange Zeit über indifferent, kontrahiert dann jedoch plötzlich und bleibt in diesem Zustande 30 Minuten lang, streckt sich dann jedoch wieder. 4. VII. Beide große Kolonien (A. u B) sind abgestorben und ihr Kinoplasma zerfallen. Die kleineren Kolonien dagegen sind noch am Leben und haben ihre Kontraktilität bewahrt. Ihre Stiele sind unversehrt.

48. Experiment. 11. VII. 10. 11 U. 50 Min. Vm. Acht Kolonien von *Z. alternans* und eine Kolonie von *Z. mucedo* sind unter das Deckglas in 0,4-no. $CaCl_2$-Lösung gebracht. Kontrahieren und bleiben im Zustande der Systole, zucken häufig zusammen, strecken sich jedoch nicht ganz aus. Im Laufe einer Stunde werfen alle einige Köpfe ab (nach Verlauf von 15, 15, 15, 40, 40, 50, 50, 55 Minuten). Nach Ablauf einer Stunde strecken sich sämtliche Kolonien ganz aus, kontrahieren jedoch noch häufig energisch (drei bis achtmal in der Minute). Das Abfallen neuer Köpfe hat aufgehört. Die Köpfe quellen nicht auf wie in NaCl, sondern schrumpfen im Gegenteil zusammen, augenscheinlich infolge der Exosmose. Erst nach Verlauf von 3 Stunden stirbt eine der Kolonien ab und das Kinoplasma derselben zerfällt. Dasselbe Schicksal erreicht auch die übrigen Kolonien von *Z. alternans* während der nächsten 4 Stunden, während *Z. mucedo* noch nach Ablauf von 24 Stunden sein natürliches Aussehen bewahrt. Die Periode der admortalen Kontraktion ist eine kurze. Die Anzahl der Minuten bis zum Zerfall des Kinoplasmas im Tropfen ist für *Z. alternans*: 190, 240—290, 315, 315, 425, 430, 430, im Mittel 317 Minuten.

49. Experiment. 1. VII. 10. 3 U. Nm. Mehrere Kolonien von *Z. mucedo* sind in 5%iger Lösung kristallinischen $MgSO_4$ (stark hypotonische Lösung!) unter dem Deckglas untergebracht. In vielen Köpfen treten Blasen auf. 3 U. 05 Min. 8%ige $MgSO_4$-Lösung wird unter das Deckglas gebracht: Idem. — Unter dem Deckglase — Seewasser: Sämtliche Kolonien haben sich erholt und sind normal. 4 U. 03 Min. 12%ige Lösung $MgSO_4$ krist.: Nach kurzer Zeit nehmen die Kolonien ein normales Aussehen an, die Stiele sind gestreckt, kontrahieren selten. Die Köpfe sind geöffnet, die Wimpern arbeiten. Die Nacht über bleiben die Gläser in der feuchten Kammer. 2. VII. 11 U. 30 Min. Vm. Dasselbe Bild. Viele Köpfe geöffnet, die Wimpern schlagen. Die Stiele gestreckt, reagieren auf Reize hin und wieder durch Kontraktion.

50. Experiment. 12. VII. 10. 2 U. 30 Min. Nm. Elf Kolonien von *Z. alternans* und eine von *Z. mucedo* sind in 0,4-no. $MgCl_2$ gebracht. Während 3 Stunden sind die Kolonien normal, viele Köpfe geöffnet, die Wimpern schlagen. Die Stiele sind meist gestreckt, kontrahieren hin und wieder. 6 U. Nm. wird die Beobachtung eingestellt, wobei nur zwei Kolonien von *Z. alternans* abgestorben sind. Die übrigen sind am Leben, doch hat das Schlagen der Wimpern aufgehört. 13. VII. 10. 12 U. Mittags. Während der Nacht sind alle Kolonien abgestorben.

Während in Gegenwart von NaCl selbst bedeutende Zusätze von Ca und Mg (0,1 und 0,2-no.) die giftige Wirkung des Na nur im selben Grade aufhalten, wie bedeutend verdünntere Lösungen, bleiben in reinen,

dem Seewasser isotonischen Lösungen von $CaCl_2$ und $MgCl_2$ (ebenso wie $MgSO_4$) die Zoothamnen bedeutend länger, selbst während mehrerer Tage, am Leben. Da der längeren Dauer der Experimente die Unmöglichkeit einer Fütterung und die Schwierigkeit den Gasaustausch aufrecht zu erhalten, störend in den Weg treten, konnte ich keine ganz genauen Zahlenwerte erhalten und es fällt mir daher schwer, eine befriedigende Erklärung der gewissen Buntheit der Resultate zu geben.

Was NH_4Cl und LiCl anbetrifft, so stände a priori zu erwarten, daß ihre Wirkung mit derjenigen von NaCl und KCl übereinstimmt. Für NH_4Cl wird diese Voraussetzung bestätigt.

51. Experiment. 29. VII. 10. 1 U. 35 Min. Elf Kolonien von *Z. alternans* sind in 0,5-no. NH_4Cl nach Abspülen in fünf Zwischenlösungen untergebracht. Bis zum Abwerfen des ersten Kopfes verlaufen: 10, 12, 15, 15, 16, 16, 16, 16, 17, 17, 17 — im Mittel etwa 15 Min. Bis zum Beginn der admortalen Kontraktion: 15, 15, 16, 16, 16, 16, 18, 18, 18, 18, 25 — im Mittel etwa 17 Min. Bis zum Zerfall des Kinoplasmas in Tropfen: 19, 20, 20, 20, 20, 20, 20, 25, 25, 30, 30 — im Mittel etwa 22 Min.

Das Experiment mit Chlorlithium ergab weniger mit der Wirkung von K und Na übereinstimmende Resultate.

52. Experiment. 29. VII. 10. 2 U. 40 Min. Sieben Kolonien von *Z. alternans* sind nach Abspülen in fünf Zwischenlösungen in 0,5-no. LiCl gebracht. Bis zum Abwerfen des ersten Kopfes < 30, < 30, 30, 40, 40, — im Mittel < 35 Min. Bis zum Eintreten der admortalen Kontraktion < 30, < 30, < 30, 35, 40, 50, 65 — im Mittel < 43 Min. Bis zum Zerfall des Kinoplasmas 31, 35, 35, 50, 50, 60, 70 Min. — im Mittel 47 Min.

Vergleichen wir die Wirkung isosmotischer Lösungen von NaCl, KCl, LiCl, NH_4Cl_2 MgCl und $CaCl_2$, so läßt sich leicht erkennen, daß sich diese Chloride in zwei getrennte Gruppen scheiden: die Chloride der einwertigen Metalle Na, K, Li und NH_4 üben eine ausgesprochen schädliche Wirkung auf den Vorticellinenstiel aus und veranlassen den Zerfall des Kinoplasmas im Laufe weniger als einer halben Stunde (Li aber erst nach 47 Minuten!), während in Lösungen der Chlorverbindungen der zweiwertigen Erdealkalien Mg und Ca die Vorticellen bisweilen länger als 24 Stunden am Leben bleiben[1]).

---

[1]) Bemerkung beim Druck. Im Jahre 1911 habe ich eine neue Serie von Experimenten angestellt, indem ich einerseits die Wirkung von RbCl und CsCl untersuchte, andrerseits aber viel genauere Größen (bei ständiger Temperatur) vergleichen konnte. Diesmal bin ich zum Schluß gekommen, daß die Grenze zwischen ein- und zweiwertigen Kationen nicht so scharf ist, wie ich früher glaubte. Ich habe folgende Kationenreihe festgestellt: $K > Na > Rb > NH_4 > Cs > Li > Sr > Mg > Ca$. Die Geschwindigkeit

i) Neunte Serie von Experimenten: die Rolle der Anionen.

In den vorhergehenden Experimenten bedienten wir uns stets der Chlorverbindungen verschiedener Metalle und studierten die Wirkung der Katione. Spielen nun auch die Anione irgendeine Rolle im Zerfallsprozeß des Kinoplasmas in Tropfen? Um der Lösung dieser Frage näherzutreten, untersuchte ich in erster Linie die Wirkung verschiedener Natriumsalze auf *Zoothamnium* in dem Seewasser isosmotischer Lösungen.

Die Wirkung des 0,5-no. $NaNO_3$ stimmte am nächsten mit derjenigen des 0,5-no. NaCl überein. Nach Verlauf von 8 Minuten beginnen sämtliche Kolonien ihre Köpfe abzuwerfen und die Kontraktilität verschwindet. Nach Ablauf von 10—12 Minuten tritt die admortale Kontraktion ein, die einen sehr raschen Verlauf nimmt und gleich darauf strecken sich die Stiele mit Zerfall des Kinoplasmas in Tropfen (Experiment 53 — 25. VII. 10).

Die giftige Wirkung des $NaNO_3$ kann durch den Zusatz von $Ca(NO_3)_2$ gehemmt werden.

54. Experiment. 25. VII. 10. 1 U. 22 Min. Acht Kolonien von *Z. alternans* sind nach Abspülen in fünf Zwischenlösungen in 0,5-no. $NaNO_3$ + 0,01-no. $Ca(NO_3)_2$ gebracht. 1 U. 50 Min. Alle noch kontraktil, die Köpfe unversehrt, eingezogen oder entfaltet, die Wimpern schlagen nicht. 2 U. 10 Min. Sieben Kolonien haben einige Köpfe abgeworfen. 2 U. 20 Min. stirbt die erste Kolonie ab und das Kinoplasma zerfällt in Tropfen. Kurze admortale Kontraktion. Der ersten folgen sechs Kolonien, die achte bleibt jedoch noch lange am Leben; der erste Kopf derselben wird um 4 U. 25 Min. abgeworfen, auf denselben folgen bald alle übrigen. Doch noch um 5 U. 45 Min., als das Experiment unterbrochen werden mußte, reagierte der nackte Stamm immer noch durch Kontraktion auf Reize und das Kinoplasma blieb unversehrt. Bis zum † vergehen 58, 83, 83, 87. 120, 130, >200 Min. Nehmen wir die letzte Größe = 200 an, so erhalten wir ein Mittel von 105 Min., was dem Resultat der Experimente mit den Chloraten (Mittel 115 Min.) nahe kommt.

Ein ganz andres Bild ergibt die Übertragung von *Z. alternans* aus dem Seewasser in NaF, NaJ, Na_2CO_3, Na_2SO_4, $Na_3H_3C_6O_7$-Lösungen.

55. Experiment. 25. VII. 10. 11 U. 25 Min. *Z. alternans* ist in 0,5-no. NaF gebracht. 11 U. 45 Min. sämtliche in unbeweglicher Kontraktion mit stark zusammengerollten Stielen. Die Köpfe sind nicht abgeworfen, zeigen jedoch große Blasen. Im Laufe vieler Stunden bleibt das Bild unverändert. Die Zoothamnien sind fixiert.

---

des Zerfalls des Kinoplasmas in isosmotischen Lösungen von Chloriden dieser Kationen nimmt nach der bezeichneten Reihe von K bis Ca allmählich ab. Durch Zusatz kleiner Mengen Chlorides eines weiter stehenden Kations wird die Reaktionsgeschwindigkeit vermindert, kann aber nicht kleiner werden, als in reiner Lösung Chlorides des zugesetzten Kations. Diese Experimente werden später ausführlich veröffentlicht.

56. Experiment. 27. VII. 10. 11 U. 35 Min. Vm. Acht Exemplare von *Z. alternans* sind in 0,5-no. NaF + 0,01-no. $MgCl_2$ gebracht. 11 U. 45 Min. Sämtliche in unbeweglicher Kontraktion mit stark zusammengerolltem Stiel. Die Köpfe unversehrt, ausgestreckt und geöffnet, mit hervorgestreckten Wimpern. Ungeheuer große Vacuolen. Die Kerne treten deutlich hervor. Fixiert!

57. Experiment. 25. VII. 10. 10 U. 35 Min. Vier Exemplare von *Z. alternans* in 0,5-no. NaJ. 10 U. 45 Min. Alle unbeweglich. Einige wenige Köpfe sind abgeworfen; die übrig gebliebenen mit großen Vacuolen versehen. Die Stiele sind in halbansgestrecktem Zustande fixiert mit deutlich ausgeprägter Kontraktionswelle.

58. Experiment. 25. VII. 10. 3 U. 20 Min. Nm. Fünf Kolonien von *Z. alternans*, in 0,35-no. Na_2SO_4 übertragen. 3 U. 30 Min. Alle Kolonien bewegungslos, reagieren auf keinerlei Reize; die Köpfe geöffnet, die Wimpern hervorgestreckt, schlagen nicht. Vacuolen sind nicht vorhanden[1]). 3 U. 45 Min. Am oberen Ende sämtlicher Stiele hat sich eine Kontraktionsknickung gebildet. Die Köpfe sind noch vorhanden, doch stark durch große Vacuolen verunstaltet, die Wimpern sind verschwunden. Die Kontraktionswelle im Stiel ist deutlicher ausgeprägt. 4 U. 20 Min. Ein Teil des Kinoplasmas sämtlicher Kolonien ist zerfallen, doch überall lassen sich noch Kontraktionsknickungen erkennen. 5 U. 10 Min. Der Zerfall des Kinoplasmas hat immer noch nicht seinen Abschluß erreicht.

59. Experiment. 27. VII. 10 3 U. 15 Min. Fünf Kolonien von *Z. alternans* in 0,35-no. Na_2SO_4 + 0,01 $MgSO_4$ übertragen. 3 U. 30 Min. Die Stämme gestreckt bewegungslos, reagieren nicht auf Reize. Die Köpfe geöffnet, gestreckt mit hervorragenden, unbeweglichen Wimpern. 3 U. 45 Min. Bei E der Stamm in Kontraktion; die Köpfe aufgequollen, die Wimpern werden abgeworfen, im Innern große Vacuolen. Bald erreichen auch die übrigen Stöcke denselben Zustand und bleiben in demselben längere Zeit über, werden fixiert. Völlige Kontraktion nach Verlauf von 30, 40, 43, 50, 55 Min. — im Mittel 45 Min.

60. Experiment. 27. VII. 10. 1 U. 40 Min. Acht Kolonien von *Z. alternans* sind in 0,35-no. Na_2SO_4 + 0,01-no. $CaCl_2$ (Niederschlag!) gebracht. 1 U. 53 Min. Die Stämme gestreckt, bewegungslos, reagieren nicht auf Reize. Die Köpfe ausgestreckt, geöffnet, mit unbeweglich hervorragenden Wimpern. 2 U. Nm. Bei allen Kolonien tritt am Oberende die Kontraktionswelle auf, die sich allmählich über den ganzen Stiel fortpflanzt. An manchen Stellen, an den Seitenästen oder am Unterende des Stieles tritt der Zerfall des Kinoplasmas in Tropfen ein, doch der Hauptteil des Stieles wird in zusammengerolltem Zustande fixiert. Die Köpfe erscheinen verunstaltet, blähen sich auf, verlieren ihren Wimpernbesatz, doch nur wenige fallen ganz ab. Nach Verlauf von 20—25 Minuten alle in Kontraktion.

61. Experiment. 30. VII. 10. 1 U. 45 Min. Drei Kolonien von *Z. alternans* werden in 3,5-no. Na_2CO_3 gebracht. Intensive Kontraktion, dann Streckung. Die Köpfe sind ausgestreckt, doch geschlossen. 2 U. Bei A und C beginnt die Kontraktionswelle. 2 U. 13 Min. A und C in völliger Kontraktion, an B tritt eine Kontraktionsknickung auf. Der Kontraktionszustand ist dauernd. 2 U. 45 Min. Unter das Deckglas 0,35 $MgCl_2$. Keinerlei Veränderungen! Ein Zerfall des Kinoplasmas findet nicht statt.

---

[1]) Bei Wiederholung des Experiments wurde *Zoothamnium* in Sublimat fixiert, was tadellose Präparate ergab: die Köpfe waren geöffnet, die Stiele ausgestreckt.

62. Experiment. 30. VII. 10. 11 U. 55 Min. Sieben Kolonien von *Z. alternans* sind in 0.25 $Na_3H_5C_6O_7$ übertragen. 11 U. 5 Min. Alle Kolonien bewegungslos, reagieren nicht auf Reize. Am Oberende der Stiele setzt die Kontraktion ein. 11 U. 30 Min. Die Kontraktion der Stämme nimmt zu, allmählich entstehen neue Knickungen. 11 U. 40 Min. Alle Kolonien in völliger Kontraktion. Die ganze Zeit über wird keine autonome Bewegung beobachtet. 12 U. 10 Min. Alle im selben Zustande. Unter den Rand des Deckglases lasse ich 0,35-no. $MgCl_2$ fließen — im Lauf von 5 Minuten strecken sich sämtliche Stämme mit gleichzeitigem Zerfall des Kinoplasmas in Tropfen.

Die eben besprochene Serie von Experimenten ist natürlich bei weitem nicht vollständig. Ich hatte eine viel zu geringe Anzahl von Salzen, auf deren Reinheit ich mich hätte verlassen können, in Händen, und außerdem war auch meine Zeit allzu knapp gemessen, da diese Experimente zum Schluß meines Aufenthalts in Villefranche ausgeführt wurden.

In erster Linie lassen sich sämtliche untersuchte Anionen in zwei Gruppen einteilen, von denen die eine Cl und NO_3 bilden, während in die andere F, J, CO_3, SO_4, $H_5C_6O_7$ unterzubringen sind. Die Anionen der zweiten Gruppe unterscheiden sich scharf durch die geringe Löslichkeit ihrer Ca-Verbindungen, während $CaCl_2$ und $Ca(NO_3)_2$ leicht in Lösung übergehen. Möglicherweise läßt sich auch die Verschiedenheit der physiologischen Wirkung beider Gruppen von Anionen durch die verschiedene Löslichkeit ihrer Ca-Verbindungen erklären.

Schon bei Vergleichung der Wirkung der verschiedenen Kationen haben wir Gelegenheit gehabt uns davon zu überzeugen, daß der Prozeß des Absterbens des Vorticellinenstiels in zwei unabhängige Phasen zerfällt. Anfangs tritt die admortale Kontraktion ein; weiter zerfällt unmittelbar darauf oder nach Verlauf einer gewissen Zeit das Kinoplasma in Tropfen und der Stiel streckt sich gerade. Unter dem Einfluß von NaCl und $NaNO_3$ verläuft die admortale Kontraktion sehr rasch und führt in kurzer Zeit zum völligen Zerfall des Kinoplasmas in Tropfen. Die Na-Verbindungen der Anionen der zweiten Gruppe (die schwer lösliche Ca-Salze ergeben) rufen gleichfalls bald die admortale Kontraktion hervor, doch wird der Zerfallsprozeß des Kinoplasmas in Tropfen verzögert, ja er kann selbst ganz wegfallen, so daß der Stiel in zusammengerolltem Zustande fixiert wird. Der Zusatz von Ca-Salzen hat hier die Bildung eines Niederschlags zur Folge und übt keine wesentliche Wirkung auf das Endresultat aus (Experiment 58). Der Zusatz von $MgSO_4$ zu Na_2SO_4 (Experiment 57) verzögert das Eintreten der admortalen Kontraktion ein wenig, während die Verzögerung des Zerfalls des Kinoplasmas in Tropfen in diesem Experiment dieselbe bleibt, wie bei Fehlen von Mg.

Die eben besprochene Reihe von Experimenten weist besonders deutlich nach, daß wir es in der admortalen Kontraktion mit einer

andern Erscheinung zu tun haben, als die übliche Systole, die mit der Diastole abwechselt. Die admortale Kontraktion ist bereits eine irreversible Reaktion. Die Übertragung der unter dem Einfluß von Na_2CO_3 in Kontraktion erstarrten Kolonien in reine $MgCl_2$-Lösung (61. Experiment) kann diesen Stöcken ihr normales Aussehen bereits nicht mehr zurückverleihen. Ebenso erfolglos bleibt die Überführung in reines Seewasser.

In bezug auf die Verzögerung des Zerfalls des Kinoplasmas in Tropfen erscheint folgende Erwägung auf den ersten Blick als die natürlichste. Die Lösungen von NaJ, NaF, Na_2SO_4, Na_2CO_3 und $Na_3H_5C_6O_7$ »fixieren« die Stiele ebenso wie starke Sublimatlösungen und andre Fixierungsflüssigkeiten, die ein Gerinnen des Protoplasmas veranlassen, d. h. die Bildung eines neuen festen und dauerhaften Skelets hervorrufen, welches den Stiel im zusammengerollten Zustande fixiert. Möglicherweise findet in gewissen der eben besprochenen Fälle tatsächlich eine solche Fixierung, d. h. eine Verwandlung der Sole des Protoplasmas in Gele, statt. Doch ist dies jedenfalls nicht immer der Fall: das 62. Experiment z. B. läßt sich nicht auf diese Weise erklären. Unter dem Einfluß des Trinatriumcitrats erreichen die Stiele bald den Zustand der admortalen Kontraktion und erstarren in demselben, wobei ein Zerfall des Kinoplasmas in Tropfen überhaupt nicht eintritt. Die Übertragung in $MgCl_2$ ruft dagegen den sofortigen völligen Zerfall des Kinoplasmas hervor. Folglich kann von einem Ausfallen eines festen neugebildeten Skelets hier nicht die Rede sein, da dasselbe die Bildung von Tropfen verhindern würde, sondern der Prozeß wird hier nur aufgehalten und kann durch die Einwirkung des $MgCl_2$ wieder beschleunigt werden. Leider verfüge ich über keine Experimente, welche den Nachweis führen könnten, ob das wirksame Moment hier im Kation Mg oder im Anion Cl zu suchen ist[1]).

k) Ergebnisse.

Aus allen im vorhergehenden Abschnitt beschriebenen Experimenten läßt sich ersehen, daß bei Ersatz des Seewassers durch Lösungen verschiedener Elektrolyten früher oder später ein »Absterben« des Stieles,

[1]) Bemerkung beim Druck. Die oben ausgesprochene Meinung, daß die Teilung der Anionen in zwei Gruppen (Ca-fällende und nicht fällende) eine nicht zufällige ist, sondern dem Wesen der Sache entspricht, wird durch meine neueren Experimente des Jahres 1911 bestätigt. Ich habe die Wirkung des essigsauren und milchsauren Natriums untersucht und gefunden, daß diese zwei Anionen derselben Gruppe wie Cl und NO_3 angehören: ich habe das vorausgesehen, da milchsaures und essigsaures Calcium im Wasser ungefähr ebenso gut, wie $CaCl_2$ und $Ca(NO_3)_2$ löslich sind.

d. h. die admortale Kontraktion eintritt, die, im Gegensatz zu der normalen Systole, eine irreversible Reaktion ist; auf diese Erscheinung kann ein Zerfall des Kinoplasmas in Tropfen folgen (doch kann letzterer auch gehemmt werden).

Alle untersuchten Kationen lassen sich in zwei antagonistisch wirkende Gruppen einteilen. Der ersten gehören Na, K, NH_4 und teilweise Li an, deren Chloride in reinen wässerigen Lösungen in kurzer Zeit das Absterben des Stieles veranlassen. Die zweite Gruppe bilden Mg, Ca und wahrscheinlich Sr; in wässerigen Lösungen ihrer Chloride bleiben die Stiele lange Zeit über am Leben, so daß es schwer fällt die Zeitdauer genau festzustellen, da für eine so lange Dauer alle übrigen schädlichen Einflüsse nicht völlig wegzuschaffen sind. Infolgedessen läßt sich nur ein einseitiger Antagonismus zwischen beiden Gruppen feststellen. Die Kationen der zweiten Gruppe schwächen die zerstörende Wirkung von NaCl und KCl ab, der Einfluß geringer Zusätze der Kationen der ersten Gruppe zu $MgCl_2$ und $CaCl_2$-Lösungen läßt sich jedoch nicht feststellen.

Die untersuchten Anionen teilen sich gleichfalls in zwei Gruppen ein. Die erstere bilden Cl und NO_3, deren Calciumverbindungen leicht in wässerige Lösung übergehen, die zweite SO_4, CO_3, J, F, $H_5C_6O_7$, welche schwerlösliche Ca-Salze geben. Die Lösungen der Na-Verbindungen der Anionen der ersten Gruppe verursachen den Zerfall des Kinoplasmas unmittelbar nach der admortalen Kontraktion. Die Anionen der zweiten Gruppe veranlassen in Na-Verbindungen in kurzer Zeit eine admortale Kontraktion, verzögern jedoch den Zerfall des Kinoplasmas. Die von mir angestellten Versuche lassen keinen Antagonismus zwischen den beiden Gruppen von Anionen erkennen.

Dies sind die faktischen Ergebnisse der in diesem Kapitel besprochenen Experimente. Hier könnte man die Schilderung abschließen, doch ziehe ich vor den Versuch zu machen, diese Tatsachen theoretisch zu begründen und weise darauf hin, daß der im weiteren dargestellten Hypothese nur die Bedeutung einer Arbeitshypothese zukommt. Ihr Zweck ist nur die Fragestellung bei weiteren Kontrollexperimenten.

Welche Ursachen rufen die admortale Kontraktion hervor? Dieselbe ist bis zu einem solchen Grade der normalen Systole ähnlich, daß kein Grund vorliegt, hier die im ersten Kapitel dieses Abschnitts gegebene Erklärung zurückzunehmen: die Ursache der admortalen Kontraktion liegt in der Erhöhung der Oberflächenspannung zwischen Kinoplasma und Thekoplasma. Doch während bei der normalen Systole die Erhöhung der Oberflächenspannung eine reversible Reaktion ist, beruht die die

admortale Kontraktion hervorrufende Erhöhung derselben auf einer tiefgreifenden Veränderung der Oberflächenschicht, wahrscheinlich auf einer irreversiblen chemischen Umwandlung des ganzen Thekoplasmas.

Wenn wir beobachten, wie bald in reinen Lösungen der Na-, K- usw. Salze die admortale Kontraktion eintritt, so drängt sich unwillkürlich als Erstes der Gedanke auf, daß dies mit dem Eindringen dieser Kationen in das Thekoplasma zusammenhängt. Bei Einwirkung reiner NaCl-, KCl- usw.-Lösungen treten in den Köpfen der Vorticellen in kurzer Zeit Vacuolen auf: dieselben wachsen bald an und die Köpfe quellen auf — deutliche Endosmose! — augenscheinlich dringt irgendeine Substanz in das Innere durch; wahrscheinlich sind dies die entsprechenden Kationen bzw. Salze, die eine bestimmte Wassermenge mit sich ziehen. Möglicherweise gehen diese Kationen chemische Verbindungen mit den Protoplasmaalbuminen ein, denaturieren dieselben, wodurch die Oberflächenspannung zwischen Theko- und Kinoplasma erhöht wird und der Stiel sich in admortaler Kontraktion zusammenkrümmt. Bei dieser chemischen Reaktion bleibt der flüssige Aggregatzustand des Kinoplasmas und Thekoplasmas unverändert: das Kinoplasma bewahrt seine Fähigkeit in Tropfen zu zerfallen, während das Thekoplasma vacuolisiert wird.

Im Gegensatz zum Na und K veranlassen reine Lösungen der Chloride deren Antagonisten nicht nur keinerlei Quellung des Kopfes, sondern meist sogar deren Streckung und Schrumpfung (besonders bemerkbar bei Einwirkung von Sr und Mg). Hier findet augenscheinlich eine Exosmose statt — irgendwelche Stoffe wandern aus dem Protoplasma der Köpfe aus; möglicherweise sind dies die Ionen von Na und K, die in diesem Experiment im umgebenden Medium fehlen.

Wie läßt es sich nun erklären, daß so minimale Zusätze von Ca und Mg das Eindringen der Na- und K-Ionen in das Thekoplasma verhindern? Hier müssen wir uns das, was oben von der Adsorption gesagt wurde, ins Gedächtnis zurückrufen. Wenn von zwei Stoffen der eine die Oberflächenspannung an der Grenze zweier Flüssigkeiten *A* und *B* stärker herabsetzt als der andre, so wird derselbe an der Oberfläche adsorbiert und kann sich hier in größerer Menge ansammeln, trotzdem die umgebende Lösung eine außerordentlich schwache ist. Lassen wir die hypothetische Voraussetzung gelten, daß die Ca- und Mg-Ionen die Oberflächenspannung stärker herabsetzen als die Na- und K-Ionen. Dann wird es verständlich, weshalb aus dem eine genügende Menge Ca- und Mg-Ionen enthaltenden Seewasser die Na- und K-Ionen nicht in größerer Anzahl in das Protoplasma einzudringen vermögen oder weniger rasch eindringen, dessen Oberfläche vom Ca und Mg eingenommen wird.

Entfernen wir jedoch aus der umgebenden Lösung diese »Schutz«-Ionen, so dringen K und Na in das Protoplasma ein und veranlassen hier eine anormale irreversible Reaktion.

Wir verfügen über einen wichtigen Hinweis darauf, daß die hemmende Wirkung der Kationen Ca und Mg in NaCl- und KCl-Lösungen sich auf die Fähigkeit dieser Kationen zurückführen läßt, die Oberflächenspannung herabzusetzen und folglich bei der Adsorption vor dem Na und K bevorzugt zu werden und das Eindringen der letzteren in das Protoplasma zu verhindern oder wenigstens zu verzögern. Äußerst bezeichnend ist die die Beziehungen zwischen der Konzentration der Ca-Ionen und deren hemmenden Einfluß auf NaCl-Lösungen (vgl. dritte Serie von Experimenten, S. 382 und Fig. 12) wiedergebende Kurve. An derselben läßt sich ein schroffes Senken bei der minimalsten Konzentration (zwischen 0,0001 und 0,0005-no.) erkennen; weiter zieht sich die Linie fast horizontal. Diese Kurve stimmt mit der von Freundlich (Kapillarchemie, S. 59) als für die Oberflächenspannung der Mischungen zweier Stoffe charakteristisch angeführten überein (diese letztere Kurve ist auf Fig. 12 rechts oben wiedergegeben). Auf der Ordinate *A* wird die Oberflächenspannung (*C*) des einen Stoffes, auf der *B* die des andern, auf den dazwischenliegenden die Werte für die Oberflächenspannung der Mischungen beider Stoffe eingetragen, während die Veränderungen der Konzentration auf der Abszisse *AB* vermerkt werden. Auf unsrer, die hemmende Wirkung der Ca-Ionen in 0,5-no. NaCl wiedergebender Kurve (Fig. 12) ist auf der Abszisse die no.-Konzentration des Ca in den untersuchten Mischungen (von 0,0001 bis 0,2-no.) eingetragen, auf der Ordinate *A* die mittlere Geschwindigkeit des Kinoplasmazerfalls bei *Z. alternans* in reinen NaCl-Lösungen (= 15 Minuten), auf der Ordinate *B* die entsprechenden Werte für Zusätze von 0,2-no. Ca, auf den Zwischenordinaten die entsprechenden Werte für die andern untersuchten Mischungen.

Von größter Wichtigkeit ist der Umstand, daß die geringsten Zusätze von Ca die bedeutendsten Resultate ergeben. Diese Erscheinung läßt sich nur in dem Sinne deuten, daß das Calcium im Vergleich zum Natrium die Oberflächenspannung tatsächlich herabsetzt, in Übereinstimmung mit dem Gibbsschen Lehrsatz, daß »eine kleine Menge eines gelösten Stoffes wohl die Oberflächenspannung stark erniedrigen, sie aber nicht stark erhöhen kann.« (Freundlich, Kapillarchemie, S. 57.)

So gelangen wir zu dem Schluß, daß in den Experimenten mit den Lösungen von Elektrolyten die admortale Kontraktion infolge des Eindringens von Na-, K-, NH_4- usw.-Ionen in das Thekoplasma verursacht wird, wodurch letzteres eine

irreversible chemische Umwandlung erleidet und die Oberflächenspannung zwischen demselben und dem Kinoplasma eine gewisse Höhe erreicht. Das Eindringen der betreffenden Kationen wird verzögert, wenn die Oberflächenschicht aus der umgebenden Lösung Ca-, Mg- und Sr-Ionen adsorbiert, die die Oberflächenspannung im Vergleich zu den Na-, K- und NH_4-Ionen herabsetzen.

Außer dem Eindringen von Na, K usw. können natürlich auch ganz andre Ursachen eine irreversible chemische Umwandlung des Thekoplasmas hervorrufen, die ihrerseits eine Erhöhung der Oberflächenspannung des Kinoplasmas und die admortale Kontraktion zur Folge hat: verschiedene Fixierungsmethoden, stark hypotonische Lösungen usw.

Der Zerfall des Kionplasmas in Tropfen, der auf die admortale Kontraktion folgen kann, läßt sich augenscheinlich auf eine weitere Erhöhung der Oberflächenspannung des Kinoplasmas zurückführen, die durch irgendeinen besonderen chemischen Prozeß an der Oberfläche veranlaßt wird. Dieser Vorgang wird bei Vorhandensein von Anionen, die unlösliche Ca-Salze bilden, oder von Zusätzen zum NaCl und KCl solcher minimaler Mengen von Ca oder Mg, die nicht genügend sind, um die admortale Kontraktion zu verhindern, aufgehalten; eine gleiche Wirkung zeigen auch minimale Zusätze von Ba (0,0001-no.) und Hg (0,000001-no.). Doch verfüge ich nicht über eine ausreichende Anzahl von Beobachtungen, um den Versuch zu wagen, auch diese Erscheinungen miteinander in Beziehung zu bringen.

§ 3. Einfluß der Ca- und Mg-Ionen auf die Kontraktilität des Stieles und der Wimpern.

Die im vorhergehenden Abschnitt angeführten Zahlen beziehen sich ausschließlich auf die admortalen oder postmortalen irreversiblen Reaktionen: auf die admortale Kontraktion und den Zerfall des Kinoplasmas in Tropfen. Nun schien es mir aber von großem Interesse zu sein, solche Zahlenwerte zu erhalten, welche die einen oder andern intravitalen Prozesse zu kennzeichnen imstande wären. Es erwies sich, daß sich die Kontraktilität des Stieles durch die Anzahl selbständiger Kontraktionen pro Minute charakterisieren läßt. Unter normalen Lebensbedingungen im Seewasser kontrahiert eine völlig unversehrtes *Zoothamnium* unregelmäßig, hauptsächlich unter dem Einfluß äußerer Reize. Bisweilen bleiben die Stiele eine längere Zeit über, viele Minuten lang, völlig ausgestreckt; der eine oder andre äußere Reiz: die Berührung mit irgendeinem Gegenstand, ein Stoß usw. führt eine einmalige oder wiederholte Kontraktion

herbei, wobei diese Kontraktionen zuweilen während einer ganzen Reihe von Minuten sich in regelmäßiger Folge ein- bis fünfmal pro Minute periodisch wiederholen; nach Aufhebung des Reizes tritt darauf von neuem ein Ruhezustand ein. Es lassen sich nun solche Bedingungen schaffen, daß ein beständiger und bestimmter Reiz ununterbrochen auf die Vorticelle einwirkt, z. B. durch Übertragung derselben aus dem Seewasser in eine isosmotische Lösung irgendeines Stoffes. In gewissen Fällen lassen sich dadurch mehr oder weniger regelmäßige selbständige Kontraktionen des Stieles erzielen, die bis zum Tode, d. h. dem Zerfall des Kinoplasmas in Tropfen, fortdauern; die Anzahl dieser Kontraktionen läßt sich bestimmen und bei einer genügenden Menge von Beobachtungen die durchschnittliche Anzahl von selbständigen Kontraktionen pro Minute berechnen, welche für die Wirkung der betreffenden Lösung auf die Kontraktilität bezeichnend ist. Durch wiederholte Experimente läßt sich die Beziehung zwischen diesen Zahlenwerten und der chemischen Zusammensetzung der Lösung feststellen, wie ich dies weiter unten näher ausführen werde. In Gegenwart der einen Kationen steigt die Zahl der selbständigen Kontraktionen im Mittel bis 4—5, in Gegenwart andrer sinkt dieselbe unter 1. In gewissen Fällen findet gar keine Kontraktion des Stieles statt, wobei derselbe entweder im Stadium der Systole oder der Diastole verharrt. Bemerkenswerterweise werden die Bewegungen der Wimpern ganz anders reguliert als die des Stieles — dieselben büßen ihre Bewegungsfähigkeit mit besonderer Leichtigkeit ein und stehen in solchen Lösungen völlig still, die eine besonders energische Kontraktilität des Stieles veranlassen, und schlagen andrerseits in solchen, in denen selbständige Kontraktionen des Stieles selten sind.

Um eine Reihe wirklich deutlicher Zahlenwerte zu erhalten, ist es jedoch notwendig, die Beobachtung in der betreffenden Lösung mehr oder weniger lange fortzusetzen. Erstens vergehen die ersten 5—10 Minuten mit dem Auswaschen in den Uhrgläsern; wenn dann die Zoothamnien in den letzten Tropfen unter das Deckglas übertragen werden, müssen sich dieselben erst eine Weile erholen, um den Einfluß der mechanischen Reize aufzuheben. Es ist deshalb nicht möglich, die Kontraktilität von *Zoothamnium* in dem Seewasser isosmotischen NaCl-, KCl- und NH_4Cl-Lösungen durch genaue Zahlenwerte zu charakterisieren. Die Wirkung dieser Lösungen auf die Kontraktilität läßt sich nur in allgemeinen Zügen folgendermaßen schildern. Während der ersten Minuten nach Übertragung in die reinen Lösungen befanden sich die Stöcke in einem dauernden Reizzustande: die einen kontrahieren viele Male (bis 15 pro Minute), andre verhalten sich ruhiger. Einige Kolonien gehen von dem stark ausge-

prägten Reizzustande — Tetanusstadium — fast unmerklich zum Stadium der admortalen Kontraktion über; andre machen erst einen gewissen Ruhezustand durch und verharren die letzten Minuten vor der Kontraktion im Stadium einer ruhigen Diastole. Die Köpfe sind in allen genannten Lösungen meist von Anfang an geschlossen, das Peristom ist eingezogen, die Arbeit der Wimpern eingestellt oder dieselben schlagen nur im Schlund, wo sie augenscheinlich vor dem direkten Einfluß der Lösung geschützt sind.

$NaNO_3$ übt dieselbe Wirkung auf die Kontraktilität aus wie NaCl, während die andern Natronsalze, mit denen Beobachtungen angestellt wurden, einen etwas abweichenden Einfluß haben. In Lösungen von NaF, NaJ, Na_2CO_3, Na_2SO_4 und $Na_3H_5C_6O_7$ verlieren die Stiele sehr bald ihre Kontraktilität und befinden sich schon vom Moment des Beginns der Beobachtung im Stadium der unbeweglichen Diastole, das mehr oder weniger unmerklich in die admortale Kontraktion übergeht. Die Köpfe bleiben in diesen Lösungen bisweilen ausgestreckt und zur Hälfte oder selbst ganz geöffnet. Die Wimpern können aus den geöffneten Köpfen hervorragen, sind jedoch völlig unbeweglich. Besonders augenfällig ist in dieser Beziehung die Wirkung von Na_2SO_4: der Stamm und sämtliche Äste sind geradegestreckt, alle Köpfe gestreckt, geöffnet und die Wimpern ragen hervor — kurz, das Bild einer völligen Erschlaffung, die augenscheinlich durch eine minimale Oberflächenspannung bedingt wird, und völliger Regungslosigkeit. Weder Kokain, noch irgendein andres mir bekanntes Narcoticum lähmen in einem solchen Grade jegliche Bewegungsfähigkeit von *Z. alternans* wie 0,4-no. Na_2SO_4. Diese Regungslosigkeit ist eine dauernde — ich fixierte solche gelähmte *Zoothamnium* in Sublimat und erzielte geradezu ideale Präparate.

Im Gegensatz zu den beschriebenen Fällen läßt sich in Lösungen von $MgCl_2$ und $CaCl_2$, ebenso wie in solchen von NaCl und KCl mit Zusätzen von Mg und Ca eine regelmäßige autonome Kontraktilität bei *Z. alternans* feststellen, wobei sich der Kontraktionsmodus in Mg- scharf von dem in Ca-Lösung unterscheidet. Die für die Charakteristik der Kontraktilität notwendigen Zahlenwerte erzielte ich auf folgende Weise: ich suchte die für das Experiment bestimmten Kolonien so unter dem Deckglas anzuordnen, daß sich alle in zwei bis drei Sehfeldern in Gruppen zu zwei bis fünf unterbringen ließen. Befinden sich nun im Sehfeld des Mikroskops bis zu fünf Kolonien, so läßt sich die Zahl der Kontraktionen einer jeden mit der Uhr in der Hand zählen und jede Minute anschreiben. Nachdem ich auf diese Weise den Kontraktionscharakter der einen Gruppe im Laufe mehrerer Minuten registriert hatte, ging ich zur zweiten und dritten

über, um dann wieder zur ersten zurückzukehren. Auf diese Weise gelang es, unter günstigen Umständen im Lauf einer Stunde bis zu 20 Minuten Beobachtungszeit an jede Kolonie zu verwenden, und zwar während verschiedener Perioden ihres Lebens unter künstlich veränderten Bedingungen. Verfügte ich nun über 100 und selbst mehr solcher Zahlen, von denen eine jede die Anzahl autonomer Kontraktionen irgendeines Individiums pro Minute wiedergab, so ließ sich schon leicht die mittlere Anzahl von Kontraktionen pro Minute, die für die betreffende Lösung bezeichnend ist, finden.

Die Resultate meiner Berechnungen werde ich in Form von Tabellen wiedergeben; um jedoch eine konkretere Darstellung meiner Methode zu geben und den Kontraktionstypus in Ca- und Mg-Lösungen deutlicher zu veranschaulichen, werde ich zwei meiner Experimente eingehender schildern.

20. Experiment. 22. VII. 10. 10 U. 30 Min. Vm. sind mehrere Stöcke in 0,5-no. NaCl + 0,01-$CaCl_2$ gebracht. Eingehende Beobachtungen über die Kontraktilität werden an acht derselben, B, C, D, E, F, G, H, J angestellt. Am Beginn der Beobachtung befinden sich dieselben hauptsächlich im Stadium der Systole, beginnen sich kaum zu strecken, um gleich wieder von neuem zu kontrahieren. Nach einer kurzen Weile entfalten sich die meisten Kolonien bis zu völliger Diastole, kontrahieren jedoch noch bis fünf und mehr mal pro Minute. Einzelne Kolonien jedoch, die besonders häufig kontrahieren, erreichen auch so nicht eine völlige Diastole. Die Köpfe sind zum größten Teil kontrahiert, mit eingezogenem Peristom und Wimpern, von denen nur die des Schlundes noch kurze Zeit nach Beginn des Experiments fortfahren zu schlagen. Anzahl der Kontraktionen pro Minute:

10 U. 50 Min. bis 59 Min.	C	4	3	3	9	2	3	4	7	3	2
	E	8	6	8	9	8	9	8	7	6	4
	D	10	9	9	9	6	9	10	7	4	7
	F	5	6	5	9	4	5	9	6	4	5
11 U. 00 Min. bis 09 Min.	E	7	4	5	5	4	5	5	3	3	4
	F	5	4	5	4	9	3	6	4	4	8
	G	12	9	8	9	15	10	8	9	7	10
	H	7	6	6	6	7	9	8	4	7	6
11 U. 18 Min. bis 22 Min.	J	5	5	7	4	4					
11 U. 25 Min. bis 29 Min.	B	6	3	7	6	4					
	C	5	2	4	5	6					
	E	3	2	5	1	3					
11 U. 45 Min. B in Kontraktion. 11 U. 50 Min. B †.											
11 U. 51 Min. bis 12 U.	C	1	4	4	0	2	1	0	3	2	1
	E	3	5	5	4	5	4	2	1	1	3
	F	4	4	4	3	9	6	3	7	2	3
	G	5	3	8	7	8	10	5	5	6	9
	H	10	15	9	Verliert viele Köpfe und †.						

12 U. 01 Min. D in Kontraktion. 12 U. 05 Min. D †.

12 U. 02 Min. bis 11 Min.	F	5	3	5	4	5	3	3	2	3	2
	G	7	6	5	6	5	5	8	9	6	5
	E	4	0	3	2	1	5	4	1	1	2
	C	6	3	5	0	4	3	3	4	3	0

12 U. 15 Min. E 3, 2, 2, 0 . . . . 0, 2, 4;
G 9, 6, 7, 7 . . . . 4, 9, 6.

12 U. 30 Min. F †. 12 U. 33 Min. E †. 12 U. 37 Min. C †. 12 U. 38 Min. G †.

Die allgemeinen Resultate dieses Experiments lassen sich durch folgende Tabelle wiedergeben:

	Anzahl von Beobachtungsminuten	Zahl der gezählten Kontraktionen	Durchschnittliche Anzahl von Kontraktionen pro Minute
B	5	26	5,2
C	35	111	3.2
D	10	80	8
E	52	199	3,8
F	40	188	4,7
G	37	272	7,3
H	13	100	7,7
I	5	25	5
Mittel	Summe 197	Summe 1001	5,15

42. Experiment. 16. VII. 10. 10 U. Vm. Mehrere Kolonien von *Z. alternans* sind in 0,5-no. KCl + 0,1-no. $MgCl_2$ gebracht. Beobachtungen werden an acht Stöcken angestellt. Die Stiele der meisten sind in ruhigem ausgestrecktem Zustande, kontrahieren hin und wieder und strecken sich dann wieder bis zu völliger Diastole aus. Die Köpfe sind ausgestreckt, geöffnet, die Wimpern zum größten Teil hervorgestreckt und schlagen in vielen Fällen energisch (besonders an den aboralen Wimperkränzen der großen Köpfe). Notiert wurde die Zahl von Kontraktionen pro Minute für jede der beobachteten Kolonien (die Unterbrechungen in der Beobachtung bezeichne ich durch eine Reihe von Punkten).

A: 1, 2, 0, 1, 1, 3, 0, 3, 1, 0 . . . . 1. 1, 0, 1, 2, 3, 0, 2, 1, 0 . . . . † 11 U. 40 Min.

B: 2, 0, 1, 1, 1, 1, 1, 3, 1, 2, 0 . . . . 0, 1, 0, 1, 1, 0, 0, 2, 2, 0 . . . . 1, 0, 0, 0, 0, 0, 0, ... † 12 U. 15 Min.

C: 0, 0, 1, 0, 1, 0, 0, 0, 0, 0 . . . . 1, 1, 0, 0, 1, 0, 0, 1, 0, 0 . . . . 0, 0, 0, 0, 0, 0, ... † 12 U. 30 Min.

D: 3, 0, 1, 0, 2, 0, 1, 1, 0, 0, 2, 1 . . . . 0, 2, 0, 1, 0 . . . . 0, 0, 0 . . . . † 11 U. 30 Min.

E: 1, 0, 1, 0, 0, 3, 2, 0, 0, 0, 0, 0, ... 0, 3, 1, 0, 0 .... 0, 0 .... 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0 .... † 11 U. 55 Min.

F: 2, 0, 1, 1, 0, 0, 4, 3, 2, 1, 0, 6 .... 1, 0, 2, 0, 0, 0, 1, 1, 0, 3 .... 0, 0, 0, 7, 0, 3, 1, 0, 0, 0 .... 0, 1, 0, 0, 1.

G: 1, 0, 0, 1, 0, 0, 0, 0, 0, 1, 0, 1 .... 0, 4, 0, 5, 0, 0, 4, 3, 1, 3 .... 0, 2, 1, 0, 1, 0, 0, 0, 0, 0, 0 .... 0, 0, 0, 0, † 12 U. 10 Min.

H: 1, 0, 0, 1, 0, 0, 0, 0, 0, 1, 0, 1 .... 0, 4, 10, 10, 10, 10, 7, 7, 3, 3 .... 0, 1. 0, 0, 0. 0. 0, 0, 0, 0, ... 0, 0. 0, 0 .... † 12 U. 45 Min.

Bemerkenswert ist die Zahlenreihe für die Kontraktionen der Kolonie H. Nach den gleichförmig geringen Zahlen 0 und 1 treten plötzlich so hohe Zahlen wie 4, 10, 10 usw. auf. Augenscheinlich haben wir es hier mit dem Einfluß eines zufälligen äußeren Reizes zu tun, der hier dieselbe Wirkung ausübt wie unter natürlichen Bedingungen im Seewasser. Wenn wir eine richtigere Vorstellung von den autonomen Kontraktionen gewinnen wollen, so müssen wir bei Berechnung der Mittelwerte diese hohen Zahlen ganz fallen lassen.

Die allgemeinen Resultate dieses Experiments lassen sich durch folgende Tabelle veranschaulichen

	Anzahl von Beobachtungsminuten	Zahl der gezählten Kontraktionen	Durchschnittliche Anzahl von Kontraktionen pro Minute
A	20	23	1,1
B	26	20	0,8
C	26	6	0,2
D	14	11	0,8
E	29	11	0,4
F	37	41	1,1
G	37	26	0,7
H	37 (bzw. 28)	72 (bzw. 5)	1,9 (bzw. 0,2)
	226 bzw. 217	210 bzw. 143	0,9 bzw. 0,65

Nachdem ich an zwei Beispielen gezeigt habe, auf welche Weise ich die durchschnittlichen Zahlenwerte, die für die autonome Kontraktilität in der betreffenden Lösung bezeichnend sind, erhalten habe, will ich die genauesten der von mir erzielten Resultate in zwei Tabellen wiedergeben.

Einfluß des Ca auf die Kontraktilität.

Nr. des Experiments	Datum	Lösung	Anzahl von Kolonien	Anzahl von Beobachtungsminuten	Zahl der gezählten Kontraktionen	Durchschnittliche Anzahl von Kontraktionen pro Minute
15	22. VII. 10	NaCl + 0,1-no. $CaCl_2$	8	138	508	3,7
20	22. VII. 10	NaCl + 0,01-no. $CaCl_2$	8	197	1001	5,1
21	23. VII. 10	NaCl + 0,001-no. $CaCl_2$	8	119	206	1,7
39	16. VII. 10	KCl + 0,1-no. $CaCl_2$	8	157	406	2,6
40	15. VII. 10	KCl + 0,01-$CaCl_2$	8	155	144	2,9
						Mittel 3,2

Einfluß des Mg auf die Kontraktilität.

Nr. des Experiments	Datum	Lösung	Anzahl von Kolonien	Anzahl von Minutenbeobachtungen	Zahl der gezählten Kontraktionen	Durchschnittszahl von Kontraktionen pro Minute
	26. VII. 10	NaCl + 0,1-no. $MgCl_2$	9	111	97	0,9
	12. VII. 10	NaCl + 0,01-no. $MgCl_2$	6	62	14	0,2
	16. VII. 10	KCl + 0,1-no. $MgCl_2$	8	226	210	0,9
	15. VII. 10	KCl + 0,01-no. $MgCl_2$	7	93	23	0,2
						Mittel 0,5

Aus unseren Experimenten läßt sich auf diese Weise der Kontraktilitätstypus für Calcium- und Magniumlösungen feststellen. In reinen $CaCl_2$-Lösungen[1]) oder in Lösungen von NaCl, bzw. KCl mit einem Zusatz von Ca erreichen die Stiele erst einen Zustand von tetanischer Systole mit einer großen Anzahl von Kontraktionen pro Minute. Nach Verlauf einer gewissen Zeit tritt eine gewisse Ruhe ein. Bei vielen Individuen macht sich zwischen den Kontraktionen bereits eine völlige Diastole bemerkbar, doch sind die Kontraktionen noch häufig, im Durchschnitt 3,2 pro Minute. Die autonome Kontraktilität nimmt gewöhnlich an Intensität bis zur admortalen Kontraktion, in die der Stamm bisweilen

[1]) Ich verfüge nicht über eine genügende Zahl von Beobachtungen, um die durchschnittliche Anzahl von Kontraktionen pro Minute in reinen $CaCl_2$- und $MgCl_2$-Lösungen zu bestimmen, doch stimmen die vorhandenen Zahlen und Beobachtungen völlig mit den Resultaten der eingehender studierten Experimente überein, wo Ca und Mg nur als Zusätze zu NaCl- oder KCl-Lösungen figurieren.

unmittelbar von der tetanischen Systole übergeht, nicht ab. Die Köpfe befinden sich von Anfang an im Kontraktionszustande mit eingezogenen Stirnfeldern. Wenn sich auch bisweilen eine Flimmerbewegung bemerkbar macht, so betrifft dies nur den Schlund: die Peristomwimpern und die aboralen arbeiten nicht.

In reinen $MgCl_2$-Lösungen oder in NaCl-, bzw. KCl-Lösungen mit einem Mg-Zusatz verharren die Stämme der Kolonien von Anfang an oder nach einer kurzen Reizperiode hauptsächlich im Stadium einer ruhigen Diastole. Die autonome Kontraktilität ist eine im Verhältnis zu der in Calciumlösungen geringe (im Durchschnitt eine Kontraktion pro Minute). Die Köpfe strecken sich nach Ablauf der kurzen anfänglichen Reizperiode aus und schrumpfen selbst ein wenig unter dem Einfluß der Endosmose. Die Stirnfelder und das Peristom werden ausgestülpt, die Wimpern sind hervorgestreckt und arbeiten.

Der Unterschied zwischen dem Kontraktionstypus in Ca- und Mg-Lösungen ist ein so augenfälliger, daß es gewöhnlich nicht schwer fällt, nach dem Kontraktionsmodus zu bestimmen, ob sich die Vorticelle in einer $MgCl_2$- oder $CaCl_2$-Lösung befindet; auf diese Weise lassen sich selbst äußerst geringe (0,01-no. und weniger) Zusätze von Ca und Mg zum NaCl erkennen. Im folgenden Abschnitt werden wir Gelegenheit haben zu sehen, daß man sich auch in der Praxis dieser Methode zur chemischen Analyse von Kochsalz bedienen kann.

Wie ist nun dieser Unterschied des Einflusses von Mg und Ca auf die Kontraktilität zu erklären? Hier müssen wir natürlich wieder unsre Arbeitshypothese zur Hilfe heranziehen.

Wir nahmen an, das Ca und Mg würde von der Oberfläche des Kinoplasmas adsorbiert, was eine Herabsetzung der Oberflächenspannung und eine Erschlaffung, d. h. Streckung des Stieles zur Folge hat. Auf welche Weise kann nun aber eine Kontraktion stattfinden? Dies kann durch Extrahieren des Ca (bzw. Mg) aus der Oberfläche, z. B. durch Entstehen irgendeiner nicht dissoziierenden oder unlösbaren Ca-Verbindung zustande kommen. In der Ca-haltigen Lösung streckt sich der Stiel deshalb, weil dieses Ion an der Oberfläche des Kinoplasmas adsorbiert wird. Doch gehen im Kinoplasma oder (noch wahrscheinlicher) im Thekoplasma irgend chemische Prozesse vor sich, im Zusammenhang mit welchen nach Ablauf einer gewissen bestimmten Vorbereitungsperiode das Ca von der Oberfläche des Kinoplasmas extrahiert wird, die Oberflächenspannung

des letzteren anwächst und der Stiel kontrahiert. Im nächsten Moment dringen die Ca-Ionen aus der Lösung in das Thekoplasma ein, werden an der Oberfläche des Kinoplasmas adsorbiert und der Stiel streckt sich von neuem schneller oder langsamer, in Abhängigkeit von der Diffusionsgeschwindigkeit des Ca. Zu dieser Zeit finden im Thekoplasma von neuem die einleitenden chemischen Vorgänge statt, welche, nachdem sie eine gewisse Intensität erreicht haben, durch Extraktion der freien Ca-Ionen von der Oberfläche des Kinoplasmas eine Erhöhung der Oberflächenspannung und eine Kontraktion des Stieles veranlassen. In Lösungen, die nur Ca und Cl oder außerdem noch Na (bzw. K) enthalten, verlaufen die chemischen Reaktionen im Thekoplasma, welche die Extraktion des Ca von der Oberfläche des Kinoplasmas einleiten, ununterbrochen und schnell: kaum beginnt die Streckung des Stieles infolge der Adsorption des Ca aus dem Medium, so setzt auch die Extraktion des Ca durch das Thekoplasma ein. Unter diesen Umständen tritt der Zustand einer »tetanischen Systole« des Stieles ein, der nun 5—12 und mehr mal pro Minute zusammenzuckt, wie sich dies besonders häufig in 0,4-no. $CaCl_2$ beobachten läßt. Der Umstand, daß eine solche autonome Kontraktilität im Seewasser fehlt, findet seine Erklärung wahrscheinlich im Vorhandensein andrer Ionen, welche scheinbar einen hemmenden Einfluß auf die Extraktion des Ca einleitenden chemischen Vorgänge ausüben. Es scheint mir von größtem Interesse und gut möglich zu sein, eine Reihe von Experimenten anzustellen, welche die Rolle des Anion SO_4 aufzuklären imstande wären.

Wir haben bereits im vorhergehenden Abschnitt gesehen, daß das Mg, ähnlich wie das Ca, adsorbiert wird und die Oberflächenspannung herabsetzt. Dafür zeugt auch die deutliche Tendenz des Stieles zur Diastole in $MgCl_2$-Lösungen. Geben wir jedoch einmal zu, die Kontraktion des Stieles würde durch einen chemischen Prozeß bedingt, der das Ion, dessen Adsorption die Oberflächenspannung des Kinoplasmas herabsetzt, aus der Lösung auszieht, so wird es klar, daß bei Ersatz des Calciums durch Magnium die autonome Kontraktilität eine schroffe Veränderung erfahren muß. Im Thekoplasma von *Z. alternans* ist wahrscheinlich auch ein solcher chemischer Prozeß möglich, der die Extraktion des Mg von der Oberfläche des Kinoplasmas einleitet, nur verläuft diese Reaktion bedeutend langsamer als der entsprechende Vorgang mit Ca und die autonome Kontraktilität wird im Experiment mit dem Mg durch die Zahl 0,5, statt der durchschnittlichen Größe für Ca 3,2 mal pro Minute, gekennzeichnet.

Bemerkenswert ist die specifische Wirkung des Mg auf die Wimperbewegung, die bei Ersatz des Mg durch Ca eingestellt wird. Ich bin

nicht imstande, ein Bild des dem Bau der Wimpern von *Zoothamnium alternans* zugrunde liegenden Mechanismus zu entwerfen, doch bestehen dieselben zweifellos aus einer festen Skeletfaser und flüssigem Protoplasma, das dieselbe umgibt und in hypotonischen Lösungen sich zu einem kugelförmigen Tropfen aufbläht; der Unterschied zwischen den zwei Protoplasmaarten, bzw. dem Kinoplasma und dem Thekoplasma, ebenso wie die theoretisch wahrscheinliche Kompliziertheit des Skelets ließ sich bei der Kleinheit des Beobachtungsobjekts nicht erkennen. Doch kann man in Übereinstimmung mit den Verhältnissen im Stiel annehmen, daß auch hier die Streckung der Wimper durch die Erhöhung der Oberflächenspannung des Protoplasmas unter dem Einfluß der Adsorption des Ca oder Mg bedingt wird, während es zur Kontraktion, zum »Schlagen« der Wimper der Extraktion des betreffenden Ions von der Oberfläche bedarf. Und eben in dieser letzteren chemischen Reaktion kommt der Unterschied zwischen der Wimper und dem Stiel besonders deutlich zum Ausdruck: im Kinoplasma des Stieles findet, natürlich infolge der bestimmten chemischen Zusammensetzung desselben, hauptsächlich die Extraktion des Ca statt, während das Protoplasma der Wimper nur die Fähigkeit besitzt, das Mg zu extrahieren und bei Vorhandensein nur des Ca die Wimpern unbeweglich bleiben[1]).

[1]) Mit J. Loeb und in Übereinstimmung mit den oben ausgeführten Erwägungen kann man voraussetzen, daß der Muskelkontraktion der Metazoa ein seinem Wesen nach ebensolcher Wechsel von Ionen zugrunde liegt wie in unserm Falle bei *Zoothamnium*. In den Einzelheiten lassen sich natürlich Abweichungen erwarten, und vor allen Dingen würde ich die Existenz solcher Muskeln für wahrscheinlich halten, deren Kontraktilität nur durch Wanderung der Ca-Ionen, nicht aber der Mg-Ionen bedingt wird, gibt es doch viel mehr unlösliche Ca- als Mg-Salze! Mir scheint, eben in diesem Umstande liegt die Erklärung für die längst bekannte anästhesierende Wirkung der Magniumsalze: das Mg wird von der Oberfläche des kontraktilen Protoplasmas adsorbiert, die Muskeln erschlaffen und hören auf zu kontrahieren, da das Mg nicht von der Oberfläche extrahiert werden kann. Es wird gewöhnlich empfohlen zur Anästhesierung von Sectieren nach und nach eine geringe Menge des Magniumsalzes dem Wasser zuzusetzen; dabei wird das Ca allmählich an der Oberfläche durch Mg ersetzt und die Kontraktilität wird ebenso allmählich aufgehoben. Da mir eine solche allmähliche Einwirkung theoretisch überflüssig erschien, so übertrug ich die Tiere direkt in dem Seewasser isosmotische $MgCl_2$- oder $MgSO_4$-Lösungen. Der Erfolg übertraf meine Erwartungen. Actinien, Korallen, Medusen, Bryozoen, Nemertinen und verschiedene andre Tiere büßten ihre Kontraktilität völlig ein und ließen sich nach kurzem Aufenthalt in der Lösung mit Leichtigkeit fixieren. Ich übergab diese Methode zwecks einer eingehenderen Bearbeitung Herrn Dr. Timofeeff, der dieselbe zur Fixierung der verschiedensten Form anwandte und in verschiedenen Fällen etwas modifizierte. Die Ergebnisse der Untersuchungen Dr. Timofeeffs werden im Bericht des russischen zoologischen Laboratoriums in Villefranche s./M. für 1911 veröffentlicht werden.

In reinen Lösungen von NaCl, KCl, LiCl, NH_4Cl machen sich anfangs Kontraktionen des Stieles bemerkbar. Möglicherweise liegt die Ursache dieser Kontraktionen in den Ca (bzw. Mg)-Resten, die trotz dem Abspülen zwischen der äußeren und inneren Hülle oder im Kinoplasma zurück bleiben; ist dieser Vorrat aufgebraucht, so hören die Kontraktionen auf. Doch kann man auch voraussetzen, daß die Reaktion, dank welcher das Ca und Mg von der Oberfläche des Kinoplasmas durch das Thekoplasma extrahiert wird, auch mit andern Kationen denkbar ist, so mit Na, Li, K, NH_4; setzen wir nur voraus, diese Reaktion bestände in einer Verbindung des Kations mit den Eiweißstoffen. In diesem Falle tritt der Unterschied von der Kontraktilität in Calcium- und Magniumlösungen nur darin zutage, daß die Kationen, die wenigen adsorbiert werden und die Oberflächenspannung weniger herabsetzen, auch eine langsamere und unvollständigere Streckung des Stieles veranlassen; eben dies findet in Wirklichkeit statt.

Wenn eine jede Kontraktion des Stieles von der Bildung einer unlöslichen oder undissoziierbaren Calciumverbindung und jedes Schlagen einer Wimper von der Bildung einer ebensolchen Magniumverbindung bedingt wird, so müßten im Protoplasma der Vorticelle zuletzt Anhäufungen unlöslicher Verbindungen auftreten. Wir sehen nun daß es in Wirklichkeit nicht selten zur Bildung solcher Einschlüsse kommt. Im Protoplasma der Vorticellinen, Paramaecien, Stylonichien und vieler andrer Infusorien machen sich häufig umfangreiche Ablagerungen sogenannter »excretorischer« Kristalle bemerkbar, die gewöhnlich als aus oxalsaurem Calcium oder Calcium-, bisweilen Magniumphosphat bestehend angesehen werden. Die Entstehung dieser Kristalle gilt bis heute als rätselhaft und wurden dieselben meist als irgendwelche Produkte des Stoffwechsels betrachtet. Augenscheinlich werden diese Bildungen auf die eine oder andre Weise unter gewissen Umständen aus der Zelle entfernt: Individuen ein und derselben Art strotzen dazwischen von Kristallen, während sie in andern Fällen ganz frei von denselben sind.

§ 4. Das Problem der »physiologischen« Lösung und die Analyse des Kochsalzes nach der biologischen Methode.

Die chemische Grundlage der Kontraktilität des Vorticellinenstiels kann natürlich noch nicht als in den Grenzen des der Experimentierung Zugänglichen aufgeklärt gelten, ehe die Rolle eines jeden Bestandteils des Seewassers verfolgt worden und das Rezept einer »physiologischen« Lösung geschaffen ist, in welcher die Kontraktion völlig normal verläuft und die keine admortale Kontraktion veranlaßt. Es muß die Frage gelöst werden, welche Bestandteile des Seewassers ohne Schaden für die

Kontraktilität der Vorticellen weggelassen werden können und welchen Einfluß die Entfernung der für das Leben der Vorticelle notwendigen Ionen ausübt. Kurz, in bezug auf *Zoothamnium* muß noch die ganze Arbeit ausgeführt werden, die K. Herbst in seiner klassischen Untersuchung in bezug auf das in Entwicklung begriffene Seeigelei vorgenommen hat. Ich beabsichtige dies auch in bezug auf die Süßwasserinfusorien zu versuchen, für die noch erst eine besondere Untersuchungsmethodik geschaffen werden muß, und erachte es daher für möglich, die Ergebnisse meiner bisherigen Untersuchungen an Meeresformen zu veröffentlichen, ohne die Frage von der »physiologischen« Lösung beantwortet zu haben.

Aus den oben geschilderten Experimenten geht klar hervor, daß einen notwendigen Bestandteil einer solchen physiologischen Lösung Ca und Mg bilden; in Lösungen ihrer Chloride bleibt *Zoothamnium* lange Zeit über am Leben, doch bei Fehlen von Ca kontrahiert der Stiel nur schwach, während bei Fehlen von Mg die Wimperarbeit eingestellt wird. Für SO_4 haben wir gleichfalls (allerdings nur rein hypothetisch) eine bestimmte Funktion — einen hemmenden Einfluß auf die allzuhohe Kontraktilität in $CaCl_2$ — vorausgesetzt. Spielt nun bei der Kontraktilität das Na und K irgendwelche Rolle? Kann das Cl ohne Schaden durch NO_3 ersetzt werden, welches ist die Bedeutung von CO_2, O usw.? Welche Wirkung haben Ionen H und OH? Alle diese Fragen können endgültig erst durch eine Reihe neuer Experimente gelöst werden.

In Anbetracht dessen, daß viele Arten der Vorticellinen sowohl im See-, als auch im Süßwasser leben können, erscheint es wahrscheinlich, daß sich für diese Tiere eine solche »physiologische« Lösung herstellen läßt, in welcher, wie in Süßwasser, die Kationen Ca und Mg die Hauptrolle spielen, während die Kationen K und Na entweder ganz fehlen oder einen minimalen (im Verhältnis zu Ca und Mg) Zusatz bilden. Doch wird die Herstellung einer solchen Lösung noch nicht die andre Frage beseitigen: welche Ionen und in welcher Menge müssen einer 0,5-no.-Lösung von NaCl zugesetzt werden, damit das auf diese Weise erhaltene künstliche Seewasser für das Leben und die Kontraktilität von *Z. alternans* geeignet sei. Wir haben gesehen, daß Zusätze von Ca oder Mg das Absterben der Vorticellen nur verzögert, nicht aber ganz aufhält. Augenscheinlich bedarf es der einen oder andern Kombination von Ionen, welche das Protoplasma vor dem schädlichen Einfluß des NaCl »schützen« (nach der Bezeichnung Loebs) soll. Dies wird die zweite »physiologische« Lösung für die Vorticellen sein, die sich von der oben besprochenen »physiologischen« Lösung ebenso scharf unterscheidet, wie das Seewasser vom

Süßwasser nicht nur durch seinen osmotischen Druck, sondern auch seinen Salzgehalt.

In bezug auf das Blut und die Gewebe des Menschen ist natürlich die Mehrzahl der Physiologen sich wohl bewußt, daß die dem Blut isosmotische 0,9%ige NaCl-Lösung keineswegs eine »physiologische« ist und daß es, um diese Lösung der physiologischen zu nähern, eines geringen Zusatzes von Ca, K, und vielleicht auch andrer Ionen bedarf (Ringersche Lösung). Trotzdem diese Tatsache mit genügender Sicherheit festgestellt ist, führen die Ärzte in die Blutgefäße des lebenden Menschen bisweilen ungeheure Mengen dieser quasi »physiologischen« NaCl-Lösung ein. Glücklicherweise wird die schädliche Wirkung einer solchen Operation bis zu einem gewissen Grade dadurch abgeschwächt, daß man sich meistens (doch keineswegs immer und häufiger jedenfalls nicht nach Vorschrift des Arztes, vielleicht sogar der ausdrücklichen Vorschrift zuwider) statt des NaCl des »Kochsalzes« bedient, das selbst in gereinigtem Zustande stets Zusätze von Ca, Mg, SO_4 usw. enthält. Da ich in *Z. alternans* ein für die chemische Zusammensetzung des Salzgehalts der umgebenden Lösung äußerst empfindliches Objekt zur Verfügung hatte, so beschloß ich, die physiologische Wirkung der verschiedenen Kochsalzarten zu versuchen und die von mir durch die vorhergehenden Experimente erzielten Resultate zu einer chemischen Analyse des Kochsalzes zu verwenden, wenn auch nicht einer quantitativen, so doch einer qualitativen.

Untersucht wurde von mir die physiologische Wirkung folgender acht Salzsorten, die ich zum Teil an Ort und Stelle bekommen konnte (die Experimente wurden in Villefranche s/M. im russischen zoologischen Laboratorium angestellt), teils mir aus Kissingen und Moskau kommen ließ.

A. Französisches weißes Tischsalz. Villefranche.

B. Französisches graues Kochsalz — Sel gros von Felix Potin — Nizza.

C. Deutsches weißes Tischsalz aus Kissingen.

D und E. Deutsches grobkörniges graues Kochsalz aus Kissingen.

F. Russisches grobkörniges graues Kochsalz aus Moskau.

G. Russisches Tischsalz von R. Köhler, Moskau (Aufschrift: »Chlornatrium«).

H. Patentiertes Tischsalz Sel Cerebos, Paris.

Schon die beiden ersten untersuchten französischen Salzsorten, die in Nizza und Umgebung benutzt werden, zeigten bedeutende Verschiedenheiten. Das gereinigte, völlig trockene und weiße Tischsalz näherte sich seiner physiologischen Wirkung nach in der Tat dem chemisch reinen

NaCl mehr als irgendeine andre der von mir geprüften Salzsorten. Die in eine 3%ige Lösung dieses Salzes übertragenen acht Exemplare hatten bereits nach Verlauf von 10—12 Minuten ihre Köpfe abgeworfen und befanden sich im Zustand der admortalen Kontraktion, wie sich dies auch in reiner NaCl-Lösung beobachten läßt. Doch war das Stadium der admortalen Kontraktion ein wenig verzögert und dauerte bei den verschiedenen Individuen von 5—6 Minuten, so daß der Zerfall des ganzen Kinoplasmas in Tropfen nach 16, 17, 17, 17, 17, 21, 42, 42, im Mittel nach 23,5 Minuten notiert werden konnte. Eine gewisse Verlängerung des Stadiums der admortalen Kontraktion weist möglicherweise auf einen Zusatz von Ca hin, doch ist davon jedenfalls nur ein ganz minimales Quantum vorhanden, zwischen 0,0001-no. und 0,0005-no. (vgl. 22. und 23. Experiment); wird die Verzögerung der admortalen Kontraktion durch einen Zusatz von Mg veranlaßt, so ist derselbe geringer als 0,001-no. (vgl. 29. Experiment), da in einer so schwachen Lösung von $MgCl_2$, wie in unserm Salz *A*. eine Flimmerbewegung nicht stattfindet.

In der 3%igen Lösung von Kochsalz B (Sel gros), das in Form von leicht grauen Kristallen von 3—5 mm im Durchmesser in den Handel kommt, bleiben die Zoothamnien länger am Leben. Nach Verlauf von 20 Minuten sind die Köpfe aller sechs Kolonien noch unversehrt, ausgestreckt, wenn auch geschlossen; die Wimpern schlagen nicht. Die Stämme sind zum größten Teil im Stadium der Diastole, kontrahieren jedoch häufig, bei einer Kolonie tetanisch vibrierende Systole. In 34 Beobachtungsminuten wurden 114 Kontraktionen gezählt, im Mittel 3,3 Kontraktionen pro Minute. Bis zum Eintritt der admortalen Kontraktion verfließen 22, 30, 30, 32, 45, 45 = im Mittel 34 Minuten, die Dauer der admortalen Kontraktion ist 8—70 Minuten, bis zum völligen Zerfall des Kinoplasmas in Tropfen vergehen 32, 38, 44, 47, 90, 115 Minuten = im Mittel 61 Minuten.

Die Anzahl von autonomen Kontraktionen (3,3 mal pro Minute) weist auf das Vorhandensein von Ca hin, doch ist die Lebensdauer bis zum Zerfall in Tropfen etwas geringer als in den meisten meiner Experimente mit NaCl + Ca. Besonders bemerkenswert ist die lange Dauer der admortalen Kontraktion (im Mittel 27 Minuten), was auf einen ungenügenden Zusatz von Ca hindeutet. Soviel man sich auf die in der Tabelle S. 380 zusammengestellten Experimente verlassen kann, schwankt der wahrscheinliche Zusatz von $CaCl_2$ zu unsrer 3%igen Kochsalzlösung B zwischen 0,0001-no. und 0,0005-no. Hinweise auf das Vorhandensein von Mg bietet weder die Geschwindigkeit der autonomen Kontraktionen, noch die Bewegung der Wimpern.

In dem mir aus Kissingen zugesandten Salz C ist zweifellos Mg enthalten, was an der Bewegung der Wimpern, die noch nach Verlauf von 3 Stunden nicht eingestellt ist, deutlich erkennbar ist. In der 3%igen Lösung dieses Salzes tritt nach einer kurzen Reizperiode, während welcher sich die Stämme der meisten Kolonien im Zustande der tetanischen Systole mit 8—18 Zuckungen pro Minute befinden, eine Ruheperiode ein, wobei die Mehrzahl von Individuen hauptsächlich im Stadium der Diastole verharrt und nur 1,5 mal pro Minute kontrahiert. Diese Zahl ist jedoch für den Kontraktionstypus für Mg trotzdem eine allzu hohe und läßt das Vorhandensein eines Mg- und Ca-Zusatzes voraussetzen. Doch weist schon die bedeutende Lebensdauer bis zum Zerfall in Tropfen darauf hin, daß wir es hier mit einer komplizierten Lösung zu tun haben, die der »physiologischen« schon näher steht als die Mischung von $MgCl_2$ und NaCl. Bei sechs Stöcken trat der Zerfall des Kinoplasmas nach 130, 160, 190, 240, 260, 260 = im Mittel nach 207 Minuten ein, während der siebente noch nach 300 Minuten am Leben war und kontrahierte. Ich halte es für möglich, daß außer dem Na, Mg, Ca und Cl noch andre Ionen in dieser Lösung enthalten waren (SO_4?). Der Zusatz von Mg ist nicht geringer als 0,01-no., der von Ca nicht geringer als 0,001-no. (schwächere Lösungen von Ca lassen den Kontraktilitätstypus für Ca weniger deutlich zutage treten).

Das Salz D, gleichfalls aus Kissingen, unterscheidet sich schon seinem Aussehen nach scharf von dem Salz C. Es ist dies grobkörniges, kristallinisches Küchensalz, von grauer Farbe und etwas feucht, was auf das Vorhandensein von $MgCl_2$ hinweist. Seiner physiologischen Wirkung nach nähert sich dieses Salz jedoch dem Salz C. Die Wimpern sämtlicher Individuen schlagen lange Zeit, bei einer Kolonie läßt sich noch nach Verlauf von 200 Minuten eine Flimmerbewegung erkennen. Der Stiel kontrahiert etwas ruhiger als im Salz C, doch ist die autonome Kontraktilität doch eine höhere als beim Kontraktionstypus für Mg — 1,2 Kontraktionen pro Minute. Augenscheinlich ist ein Zusatz von Ca vorhanden. Ebenso wie für das Salz C müssen wir auch hier eine kompliziertere Kombination von Ionen in der Lösung voraussetzen, die die Lösung der »physiologischen« näher bringt: von sechs Exemplaren blieben zwei 50 und 75 Minuten am Leben (bis zum Zerfall des Kinoplasmas), während die andern noch nach 200 Minuten (bis zur Unterbrechung des Experiments) ein gutes Aussehen zeigten und einige die Wimpernarbeit noch nicht eingestellt hatten und kontrahierten, trotzdem ein Teil der Köpfe schon abgeworfen war.

»Küchensalz« E, ebenfalls aus Kissingen, ähnelt seinem Aussehen

nach dem Salz D, ist jedoch trockener. In physiologischer Hinsicht ist der Unterschied jedoch ein äußerst interessanter: *Zoothamnium alternans* stellt in einer 3%igen Lösung dieses Salzes die Wimpernarbeit am Peristom ein[1]) — folglich ist in der Lösnng entweder gar kein Mg vorhanden oder der Mg-Gehalt erreicht nicht 0,001-no., da in einer so schwachen Mg-Lösung die Wimpernbewegung von *Zoothamnium alternans* bereits aufhört. Die Mg-Armut der Lösung übt jedoch keinen Einfluß aus die Lebensdauer aus. Alle Kolonien (ihrer waren acht), außer einer, die früher starb, starben mit Zerfall des Kinoplasmas erst nach 160 Minuten ab, als das Deckglas zufällig verschoben wurde; sonst hätten die Stöcke vielleicht noch länger leben können. Von allen untersuchten Salzsorten nähert sich dieses Salz E seiner physiologischen Wirkung nach am meisten der Mischung NaCl + $CaCl_2$ (nicht unter 0,01-no.): die autonome Kontraktilität ist eine äußerst hohe und drückt sich durch die Zahl 3,7 aus, wobei alle Kolonien gleichmäßig kontraktil sind.

Von den zwei mir aus Moskau zugesandten Salzsorten erwies sich das grobkörnige, kristallinische, trockene Kochsalz F als das reinere. Im Salz F gingen die Kolonien bald zugrunde nach 20, 20, 24, 29, 30, 30, 40, 55 = im Mittel 31 Minuten. Alle Köpfe sind von Anfang an geschlossen, die Wimpern unbeweglich, folglich fehlt das Mg gänzlich oder fast ganz. Einige Stämme vibrieren ein wenig, doch sind dies augenscheinlich die letzten Kontraktionen, die sich auch in chemisch reinem NaCl bemerkbar machen. Eine gewisse Verlängerung der Periode bis zum Absterben muß einem Ca-Zusatz in den Grenzen von 0,0001-no. bis 0,0005-no. oder einem Mg-Zusatz unter 0,001-no. zugeschrieben werden.

Das Tischsalz R. Köhlers kommt in Schachteln mit der Aufschrift »Chlornatrium« in den Handel. Es unterliegt jedoch nicht dem geringsten Zweifel, daß wir es mit einem bei weitem nicht chemisch reinen Präparat zu tun haben, sondern mit einer komplizierten Mischung, an deren Zusammensetzung Magnium, wahrscheinlich auch Ca und andre Ionen teilnehmen. Eine 3%ige Lösung dieses Salzes F gibt eine recht gute »physiologische« Lösung für die Vorticellinen; von sieben Kolonien starben fünf mit Zerfall des Kinoplasmas fast gleichzeitig nach Verlauf von 260 bis 265 Minuten, während zwei noch nach 380 Minuten kontraktionsfähig waren, trotzdem sie alle Köpfe abgeworfen hatten. Die Kontraktilität — 1,1 mal pro Minute — kann am ehesten als Calciumkontraktilität bezeichnet werden, die nur durch die Anwesenheit andrer Ionen abgeschwächt

[1]) Bei Vorticella schlagen die Wimpern, doch sind die Bedingungen ihrer Kontraktion, ihrer Wimperbewegung und ihres Zerfalls in Tropfen überhaupt ganz andre und habe ich dieselben nicht eingehender studiert.

ist. Das Vorhandensein von Mg unterliegt keinem Zweifel, denn die Wimpern arbeiten außerordentlich lange: eine Wimpernbewegung läßt sich noch nach 3 Stunden nach Übertragung in die Lösung erkennen. Auf diese Weise kommt das Köhlersche Salz den Kissingenschen Salzen C und D sehr nahe und bleibt nicht hinter denselben als »physiologische Lösung für Vorticellen« zurück.

Von allen von mir untersuchten Salzsorten eignet sich das Pariser patentierte Salz Sel Cerebos, das sowohl in Deutschland, als auch in Rußland im Handel ist, am besten für eine »physiologische Lösung für Vorticellinen«. Dieses Salz wird aufschriftgemäß auf künstlichem Wege hergestellt. Bei Auflösung dieses Salzes bildet sich ein Niederschlag, der für die Experimente durch Filtrieren entfernt werden muß. In einem mit 3%iger Lösung dieses Salzes angefüllten Gefäße, kann *Z. alternans* einen Tag lang ausdauern. Unter dem Deckglase blieben vier Exemplare bei meinem Experiment 315, 340, 400, 400 = im Mittel 364 Minuten am Leben, wobei die Kontraktion erst 10—15 Minuten vor dem Zerfall des Kinoplasmas einsetzte, während der erste Kopf nach Verlauf von 115, 115, 280, 280 = im Mittel 147 Minuten abgeworfen wurde. Das Vorhandensein von Mg unterliegt keinem Zweifel — die Wimpern arbeiten gut und ein Schlagen derselben läßt sich noch nach Verlauf von 235 Minuten erkennen. Während der 314 Beobachtungsminuten wurden 423 Kontraktionen, im Durchschnitt 1,4 Kontraktionen pro Minute gezählt, was dem Calciumtypus, der unsrer Hypothese nach von andren Ionen (SO^4) verdunkelt wird, entspricht[1]).

Die Ergebnisse unsrer Analyse lassen sich durch folgende Tabelle veranschaulichen (S. 418).

Ich hatte die Absicht, die in der letzten Kolumne dieser Tabelle zusammengestellten Angaben durch eine chemische Analyse zu kontrollieren. Bei der unbedeutenden Menge einer jeden Salzsorte, die mir zur Verfügung stand, erwies sich dies als schwer ausführbar. Die Unterscheidung von unbedeutenden Mengen von Mg und Ca ist bei weitem keine leichte Aufgabe. Nachdem ich mich daraufhin mit einigen Chemikern beratschlagt hatte, beschloß ich deshalb von meinem Vorhaben abzustehen.

Doch wenn ohne Kontrolle die Genauigkeit der chemischen Analyse des Kochsalzes mit Hilfe meiner Methode fraglich erscheinen kann, so kann wohl die Tauglichkeit der letzteren zur physiologischen Analyse kaum angezweifelt werden. Die oben besprochenen Experimente be-

[1]) Anmerkung beim Druck. Nach den mir von der Fabrikverwaltung liebenswürdig mitgeteilten Resultaten der chemischen Analyse ist der Ca-Gehalt in Sel Cerebos wirklich auffallend groß; Mg und SO_4 sind auch vorhanden.

weisen augenfällig genug, daß die verschiedenen Kochsalzsorten eine ganz verschiedene Wirkung auf die lebende Zelle ausüben: in der Lösung des einen Salzes bleiben die Zoothamnien weniger als eine halbe Stunde, in einer andern über 6 Stunden am Leben; in einem Falle büßen die Wimpern, sobald sie mit dem Salz in Berührung kommen, ihre Arbeitsfähigkeit ein, im andern schlagen sie stundenlang. Die besprochenen Salzsorten lassen sich in zwei Gruppen einteilen: zu der ersten gehören die Salze, deren Lösungen sich der für die Vorticellen »physiologischen« nähern und welche außer einem genügenden Quantum Mg und Ca wahrscheinlich noch andre Ionen enthalten (C, D, G und H). Die andre bilden die übrigen vier Salzsorten (A, B, E und F); diese Salze halten die Flimmerbewegung der Wimpern auf, sind entweder arm an Mg, oder enthalten dieses Ion garnicht; zu dieser Gruppe gehören auch die genügend Ca enthaltenden (E), die Ca-armen (B), oder selbst nur Spuren von Ca aufweisenden Salzsorten, wie das Salz A, das dem chemisch reinen NaCl nahekommt.

Die Unterschiede in den Kochsalzsorten werden sowohl durch den Fundort, als auch vom Reinigungsverfahren bedingt. Das vom physiologischen Gesichtspunkt aus so überaus wichtige Mg wird nach Möglichkeit entfernt, damit das Salz nicht feucht wird, und auf

Nr. des Experiments		Bezugsort	Datum des Experiments	Anzahl der Kolonien	Wimperbewegung	Dauerzeit bis zum Zerfall des Kinoplasmas	Anzahl von Kontraktionen pro Minute	Wahrscheinliche Zusätze in der 3%igen Salzlösung
63	A	Nizza	17. VII.	8	—	23,5	—	Ca etwa 0,0001-no. (oder Mg $<$ 0,001-no.)
64	B	»	21. VII.	6	—	61	3,3	Ca zwischen 0,001-no. und 0,0005-no.
65	C	Kissingen	28. VII.	7	+	$>$207	1,5	Mg nicht unter 0,01-no.; Ca nicht unter
66	D	»	29. VII.	6	+	50, 75 u. $>$200	1,2	0,001-no; wahrscheinlich andre Ionen (SO_4?)
67	E	»	29. VII.	7	—	160	3,7	Ca nicht unter 0,001-no.
68	F	Moskau	31. VII.	8	—	31	—	Ca zwischen 0,0001-no. und 0,0005-no.
69	G	»	31. VII.	7	+	265 u. mehr	1,1	wie C und D
70	H	Sel Cerebos	18. VII.	4	+	364	1,4	wie C, D und G

diese Weise werden häufig die überaus wichtigen Vorzüge des rohen, ungereinigten Salzes ganz aufgehoben.

Wir haben natürlich noch keineswegs die Berechtigung die für die Vorticellinen gewonnenen Resultate auch für andre Zellen, z. B. für die des Menschen, in Anwendung zu bringen; möglicherweise üben die Ca-, Mg- u. a. Ionen auf die Erythrocyten des Menschen eine ganz andre Wirkung aus als auf die Vorticellen, doch ist es wohl kaum zweifelhaft, daß die Wirkung der verschiedenen Kochsalzsorten auch in diesem Falle jedenfalls eine verschiedene sein muß. Die Physiologen und Ärzte sollten nicht glauben, es genüge das chemisch reine NaCl durch Kochsalz zu ersetzen, um eine »physiologische« Lösung zu erhalten. Es ist wichtig die passende Salzsorte zu wählen, denn der Unterschied zwischen dem französischen Tischsalz und dem Köhlerschen Moskauer Salz ist ein sehr bedeutender. Überhaupt harrt die Frage von der Einführung von NaCl-Lösung oder Kochsalz in die Blutgefäße des Menschen einer eingehenden Nachuntersuchung, die zweifellos von vielen Physiologen bereits angestellt wird. Das zweckentsprechendste Verfahren bei dieser Untersuchung bestände wohl in einem Studium der Wirkung der verschiedenen Ionen auf bestimmte Zellen des menschlichen Organismus und die Ausbildung einer Methode zum Studium dieser Wirkung auf die Erythro- und Leucocyten, die Spermatozoen und das Fimmerepithel der verschiedenen Wirbeltiere zwecks Erzielung von ähnlichen Zahlenreihen, wie sie oben für die Vorticellen angegeben sind, scheint mir ein durchaus erreichbares Ziel. Das Studium der Wirkung dieser Ionen auf ganze Organe — Muskeln, Nerven — ergibt ein viel komplizierteres und weniger anschauliches Bild.

Schluß.

Wenn ich eben die Ergebnisse meiner Untersuchungen über die Kontraktilität des Vorticellinenstiels der Öffentlichkeit übergebe, so betrachte ich dieselben doch noch keineswegs als abgeschlossen. Ich sah mich genötigt meine Experimente zu unterbrechen, ohne zu wissen, wann sich die Umstände so günstig gestalten werden, daß ich an eine Fortsetzung derselben denken kann. Es erschien mir deshalb angebracht, die von mir erzielten Resultate zu veröffentlichen, da sie auch in diesem unvollständigen Zustande von Interesse sind. Doch zweifle ich keinen Augenblick daran, daß sich an demselben Objekt und mit denselben Untersuchungsmethoden reiche, einen tieferen Einblick in das Wesen der Kontraktilitätserscheinungen gestattende Resultate erzielen lassen. Schon eine einfache Vermehrung der Anzahl von Experimenten (z. B. mit Ca-Ionen in NaCl-Lösungen bei äußerst schwacher Konzentration zwischen

0,001- und 0,0001-no. Ca) würde detailliertere und genauere Kurven ergeben. Zu wichtigen Resultaten müßte auch ein eingehendes Studium der Wirkung der verschiedenen, im Seewasser enthaltenen Anionen und der Wirkung komplizierterer Kombinationen von Ionen des Seewassers, als die von mir untersuchten führen. Es gälte zu verfolgen, welchen Einfluß die Entfernung des einen oder andern Ions aus dem Seewasser ausübt, wie dies Herbst in seinen Experimenten mit der Entwicklung des Seeigeleies in künstlichen Medien tut. Dabei ist es keineswegs notwendig, sich ausschließlich auf die im Seewasser vorhandenen Ionen zu beschränken; es muß im Gegenteil der Einfluß der verschiedenartigen Elektrolyten und Anelektrolyten nach Möglichkeit erschöpfend erforscht werden, ebenso wie der Einfluß der Temperatur auf die Reaktionsgeschwindigkeit. Äußerst interessant wäre es, die entsprechenden Experimente mit Süßwasser anzustellen, welches natürlich reicher an Ca- und Mg-Ionen ist als viele der von mir untersuchten Lösungen. Die von mir angewandten Methoden lassen sich noch sehr vervollkommnen; schon bei Benutzung von exakter destilliertem Wasser würde eine wesentliche wichtige Fehlerquelle wegfallen; eine gleichmäßige Temperatur ist ebenfalls von großer Bedeutung: alle meine Experimente wurden bei einer zwischen 20 und 25° C schwankenden Temperatur ausgeführt.

Es könnte scheinen, daß der von mir für *Zoothamnium* geschilderte und den meisten meiner Experimente zugrunde liegende Zerfall des Kinoplasmas in Tropfen eine Ausnahmeerscheinung darstellt und deshalb einer weitgehenden allgemeinen Bedeutung entbehrt. Ich bin jedoch im Gegenteil davon überzeugt, das dies nicht der Fall ist und daß wir es hier mit einer Erscheinung zu tun haben, die sich in der einen oder andern Weise in sämtlichen kontraktilen Fasern und vor allen Dingen in den Fibrillen vieler glatter Muskelfasern erzielen läßt. So erscheint es mir zum mindesten wahrscheinlich, daß die kontraktilen Fibrillen der Muskelzellen von *Ascaris*, in denen R. Goldschmidt (Arch. f. Zellf. Bd. IV. 1909) keinerlei Struktur entdeckt, tatsächlich strukturlose Säulen flüssigen Kinoplasmas darstellen, die eine bestimmte Form dank den sie umspinnenden Goldschmidtschen Skeletfasern bewahren; diese meine Voraussetzung basiert auf den Abbildungen Apathys (Zeitschr. für wiss. Mikr. Bd. X, Tab. III), wo diese Fibrillen ganz ebenso in Tropfen zerfallen sind, wie das Kinoplasma des Vorticellenstiels. Einen ähnlichen Zerfall des Kinoplasmas kontraktiler Fasern in Tropfen, die dank der Skeletfaser eine regelmäßige Kette bilden, hatte ich Gelegenheit im Schwanz verschiedener Spermien zu beobachten und ich bin überzeugt, daß die Erforschung des Einflusses der verschiedenartigen Ionen auf die

Spermien durch reiche Resultate im Sinne der Aufklärung der Kontraktilitätserscheinungen gekrönt sein wird. Die Wimpern des Flimmerepithels sind ihrer geringen Größe wegen weniger der Untersuchung zugänglich als der Spermienschwanz, doch ist auch hier das Vorhandensein eines festen Skelets und flüssigen Protoplasmas eine längst nachgewiesene Tatsache; an gewissen Objekten gelang es mir, zwei Protoplasmaarten zu unterscheiden — das Thekoplasma und das kontraktile Kinoplasma, welches unter gewissen Umständen in eine Reihe durch den Skeletfaden zusammengehaltener Tropfen zerfällt.

Die komplizierte Struktur der quergestreiften Muskelfaser scheint mir in erster Linie durch den komplizierten Bau ihres festen Skelets bedingt zu werden, welches an und für sich nicht kontraktil ist, jedoch durch seine Elastizität die Form der Kontraktion bedingt. In diesem Skeletgerüst sind die von Thekoplasma umgebenen Tropfen flüssigen Kinoplasmas verteilt. Infolge einer solchen Verteilung erreicht die Oberfläche des kontraktilen Kinoplasmas bei geringem Volumen ungeheure Dimensionen. Die einzelnen Kinoplasmatropfen sind bei gestreckter Faser, dank den elastischen Eigenschaften des Skelets, in die Länge ausgezogen; bei Erhöhung der Oberflächenspannung nähern sie sich alle der Kugelform, was die Kontraktion der ganzen Faser zur Folge hat. Die Experimente J. Loebs und seiner Schule haben nachgewiesen, daß im Kontraktionsprozeß der quergestreiften Muskelfasern die Ortsveränderung der Na-, K-, Mg- und Ca-Ionen eine wesentliche, ja ausschlaggebende Bedeutung hat. Ich denke, es ließe sich ein solches Objekt ausfindig machen und solche Experimentierungsmethoden ausarbeiten, daß sich die hier angedeutete Hypothese über das Wesen der Kontraktilität auch an der quergestreiften Muskelfaser kontrollieren ließe.

Die Auffassung, die ich hier als Arbeitshypothese zum Studium der Kontraktilitätserscheinungen vorlege und die in gewissen Beziehungen den Anschauungen Bernsteins, J. Loebs, T. Robertsons, Macdonalds u. a. nahe kommt, besteht in folgendem. Gleichviel, ob wir es mit dem Stiel einer Vorticelle, einer Wimper, einem Spermienschwanz, einer glatten oder quergestreiften Muskelfaser zu tun haben, in allen diesen Fällen wird die Form der Kontraktion durch das für jeden einzelnen Fall typische feste Skelet bestimmt, durch welches die ungeordnete Kontraktion des flüssigen Kinoplasmas in eine geordnete Bewegung verwandelt wird. Die Ursache der Kontraktion liegt in der Steigerung der Oberflächenspannung zwischen Kino- und Thekoplasma, was ein Kleinerwerden der Oberfläche, d. h. die Annäherung der mehr oder weniger gestreckten Kinoplasmasäulen der Kugelform zur Folge hat. Umgekehrt strecken

sich die Kinoplasmatropfen bei Herabsetzung der Oberflächenspannung und nehmen die eine oder andre Gestalt an in Abhängigkeit von den Elastizitätseigenschaften des Skelets. Die Veränderung der Oberflächenspannung des Kinoplasmas steht mit der Adsorption der einen oder andern Stoffe, in erster Linie der Ionen der Alkalien und Erdalkalien in engstem Zusammenhange. Die Oberflächenspannung sinkt bei positiver Adsorption von Ca und Mg und steigt, wenn diese Kationen von der Oberfläche des Kinoplasmas dadurch extrahiert werden, daß sie im Thekoplasma irgend inaktive (nicht dissoziierbare oder unlösliche) Verbindungen eingehen. Der letztere chemische Vorgang, durch welchen das Ca und Mg von der Oberfläche extrahiert werden, hat eine Erhöhung der Oberflächenspannung und folglich einen gewissen Energieverlust zur Folge: wir haben es hier folglich mit einer exothermischen Reaktion, wahrscheinlich wohl mit einem Oxydationsprozeß, zu tun. Auf diese Weise wird die chemische Energie dieses Prozesses durch Vermittlung der Oberflächenenergie in die mechanische Kontraktionsenergie verwandelt.

Das Kinoplasma ist eine der Kontraktilitätsfunktion speziell angepaßte Protoplasmaart. Im elementarsten Sinne verfügt ein jedes flüssiges Protoplasma ebenso wie ein jeder Flüssigkeitstropfen über eine gewisse Kontraktilität, da die Gestalt eines jeden Tropfens unter dem Einfluß von Schwankungen der Oberflächenspannung Veränderungen erfährt. Die spezielle Anpassung des Kinoplasmas an die Kontraktionsfunktion besteht darin, daß die Oberflächenspannung dieser Flüssigkeiten besonders weiten Schwankungen unterworfen ist, wodurch die Kontraktionsenergie ganz besonders anwächst. Eine solche Anpassung des Kinoplasmas an die Kontraktilität kann die verschiedenartigsten Richtungen einschlagen und es ist leicht denkbar, daß wir es bei den verschiedenen Arten von kontraktilen Zellen in jedem einzelnen Falle mit einer besonderen Art von Kinoplasma zu tun haben. Diese Differenzierung des Kinoplasmas ist eine hauptsächlich, wenn nicht ausschließlich chemische. Es liegen keinerlei Gründe vor, dem Kinoplasma irgend specifische Struktur zuzuschreiben: oben (Experiment 2—4, S. 360—361) wurde bereits nachgewiesen, daß der normale Kontraktionscharakter des vacuolisierten Protoplasmas zu der Engelmannschen Theorie der kontraktilen Inotagmen völlig im Widerspruch steht. Doch schon die Vacuolisierung des Kinoplasmas macht den Gedanken wahrscheinlich, daß wir es nicht mit einer homogenen Flüssigkeit, sondern mit einer Mischung zweier Flüssigkeiten mit einer Emulsion zu tun haben. Möglicherweise besitzt das Kinoplasma in diesem Falle eine Wabenstruktur, wenn es mir auch nicht geglückt ist eine solche zu entdecken.

Die Funktion des Thekoplasmas, d. h. des das Kinoplasma umgebenden Protoplasmas, besteht in der Aufrechterhaltung des Stoffwechsels im Kinoplasma und vor allem an der Oberfläche desselben. Aus dem Thekoplasma werden an der Oberfläche des Kinoplasmas Ca, Mg und andre bathotone, die Oberflächenspannung herabsetzende, Stoffe adsorbiert. Augenscheinlich spielt sich gerade im Thekoplasma der chemische Prozeß ab, der die Extraktion der bathotonen Stoffe von der Oberfläche des Kinoplasmas veranlaßt und die Kontraktion hervorruft.

Von den chemischen Eigenschaften des Kino- und Thekoplasmas, gleichwie von den Bedingungen, denen sie sich anpassen, hängt in einem jeden einzelnen Falle ab, welche Stoffe bathoton, d. h. als solche wirken, deren Austausch die Kontraktilität bedingt. Wir haben gesehen, daß für den Vorticellinenstiel das Ca als normaler bathotoner Stoff wirkt; für die Vorticellinenwimpern ist dieser Stoff augenscheinlich Mg. Es wäre keineswegs unwahrscheinlich, wenn in andern Fällen andre Kationen oder überhaupt andre Stoffe dieselbe Rolle spielen würden, wenn auch dem Ca und Mg in dieser Beziehung eine weitverbreitete Bedeutung zukommt.

Als Folge einer Anzahl von Kontraktionen des Kinoplasmas muß es in der Zelle, wenigstens in vielen Fällen, zu einer Anhäufung der einen oder andern Ca-, bzw. Mg-Verbindungen kommen. In der Tat ist eine Anhäufung unlöslicher Ca-Verbindungen in der Zelle eine weit verbreitete Erscheinung. In vielen Fällen tritt das sich ablagernde Ca als beständiges Skelet auf, während es in andern nur zu einer zeitweiligen Ablagerung von unlöslichen Salzen kommt und dieselben bei Wechsel der Bedingungen aufgelöst oder aus der Zelle ausgeschieden werden: wir haben oben bereits auf die sogenannten excretorischen Kristalle vieler Infusorien hingewiesen, von denen das Protoplasma bald strotzt, während sie bald ganz verschwinden. Möglicherweise ließen sich mit Hilfe derselben Methoden, deren wir uns beim Studium der Kontraktilität der Vorticellinen bedient haben, auch diese Erscheinungen des Auftretens und Verschwindens der excretorischen Kristalle entziffern. Natürlich wäre dies eine äußerst dankbare Aufgabe: die Lösung derselben würde möglicherweise einiges Licht auf gewisse pathologische Störungen im Leben vieler Zellen, vor allen Dingen derjenigen des menschlichen Körpers, werfen (Arteriosclerose, Rachitis, Gicht usw.).

Über Kernbrücken und Kernsubstanz in pflanzlichen Zellen.

Von

M. v. Derschau

(Auerbach-Hessen).

Mit Tafel XXXI—XXXIII.

I. Einleitung.

Der Austritt ungelöster organischer Substanzen aus dem Zellenkern wird heute noch im allgemeinen zu den selteneren Fällen der Stoffwechselvorgänge zwischen Kern und Plasma gerechnet. Das Normale dagegen sei ein Stoffaustausch in gelöster Form auf dem Wege der Diffusion. Nemec[1]) läßt das Ausstoßen ungelöster Stoffe in den Riesenzellen der *Heterodera*-Gallen insofern als eine Art Stoffwechsel gelten, als hierdurch ein Übergang von Nährmaterial aus der Nährpflanze in den Parasiten stattfindet. Immerhin hält der Autor diesen Vorgang für ungewöhnlich, da er durch die herrschenden pathologischen Umstände bedingt sei.

Die Annahme einer Diffusion gelöster organisierter Substanz beruht auf der Voraussetzung einer den Kern vom Plasma trennenden stabileren Scheidegrenze, der Kernmembran. Die Frage, ob eine solche existiert oder nicht, ist heute noch ein strittiger Punkt wie in den 80er Jahren des vorigen Jahrhunderts[2]). Auf Grund neuerer Untersuchungen[3]) und eigner, scheint es mir wohl als sicher zu gelten, daß in den Fällen, wo

[1]) Zu vergleichen die zusammenfassenden Darlegungen von Nèmec »Das Problem der Befruchtungsvorgänge« usw. Berlin 1910. S. 272—96.

[2]) Die von Stauffacher hierüber zusammengestellte Literatur wolle man in seiner Abhandlung »Beiträge zur Kenntnis der Kernstrukturen«. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XCV. Hft. 1. 1910, vergleichen.

[3]) Stauffacher l. c., Knoll, »Bestehen direkte mit unseren heutigen Hilfsmitteln darstellbare Verbindungen zwischen Kern und Cytoplasma?« Ein Beitrag z. Morph. u. Physiol. usw. (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XCV. Hft. 1, 1910).

scharf markierte Grenzen zwischen Kern und Plasma zu sehen waren, dieselben durch gewisse Fixiermittel künstlich hervorgerufen wurden, infolgedessen eine Scheinmembran vorgetäuscht werden konnte. Eigne Studien ließen mich im Jahre 1904[1]) für das Vorhandensein direkter organisierter Stoffwechselbahnen zwischen Kern und Plasma eintreten. Dieser Überzeugung bin ich bis heute treu geblieben. Wenn ich die Membranfrage damals noch in suspenso ließ, neigte ich jedoch dazu, eine perforierte Scheidegrenze anzunehmen. —

Die fesselnden Beobachtungen Stauffachers[2]) an tierischen und pflanzlichen Zellen über die Existenz von »Kernbrücken« sowohl zwischen Kern und Plasma, als auch zwischen den Nucleolen und dem Kerngerüst erinnern mich an eine kürzere Abhandlung des Autors aus dem Jahre 1903[3]), welche den jetzt so ausführlich behandelten Gegenstand in kleinerem Umrisse skizzierte. Seit dieser ersten Veröffentlichung Stauffachers festigte sich in mir die Überzeugung von ganz bestimmten Transportwegen für Kernsubstanz. Als ich im Jahre 1906[4]) Beobachtungen über das Verhalten von Linin zum Chromatin publizierte, wurde auf Stauffachers Publikation hin der Plan gefaßt, einige Wandbelege von *Frittillaria imperialis* photographieren zu lassen. Die Aufnahmen gelangen ziemlich gut und lieferten Bilder, welche besonders die »äußeren Kernbrücken« recht gut erkennen ließen. Ich habe mich nun entschlossen, vorliegender Abhandlung einige photographische Aufnahmen zum Nachweise der Brücken beizugeben. Wenngleich schon dem unbewaffneten Auge erkennbar, wird man sich doch vorteilhaft einer schwachen Lupe bedienen. Die Verbindungsstücke, welche den »Hof« in der Umgebung des Kernes durchsetzen, sind bisweilen nur schattenhaft, weil sie in einer tieferen optischen Ebene liegen. Der Vervollständigung halber konnten Zeichnungen nicht umgangen werden, doch wurde bei der Wiedergabe der jedesmaligen Strukturen möglichste Objektivität angestrebt. In einer Abhandlung aus dem Jahre 1908[5]) widmete ich dem Austritt von Chromatin aus dem Kern besondere Berücksichtigung und beschrieb feine, den »Hof« durchsetzende Fädchen, welche die außerhalb im Plasma liegenden chromidialen

[1]) Wanderung nucleolarer Substanz während der Karyokinese usw. (Ber. Deutsch. Bot. Ges. Bd. XXII. Hft. 8. 1904).

[2]) l. c.

[3]) Einiges über Zell- und Kernstrukturen (Sonderabdr. a. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXXIII. Hft. 3. 1903).

[4]) Über Analogien pflanzlicher und tierischer Zellstrukturen (Beih. bot. Centralbl. XXII. 2. 1907).

[5]) Beiträge zur pflanzl. Mitose, Centren, usw. (Sep.-Abdr. Jahrb. f. wiss. Bot. XLVI. 1. 1908. S. 106.)

Körner mit den Chromosomenschleifen verbinden[1]). Diese Verbindungsstücke, also mit Stauffachers Brücken identisch, erschienen mir bei der Chromatinauswanderung von Bedeutung. Allerdings legte ich damals das Hauptaugenmerk auf die basisch sich verhaltende Kernsubstanz, also das Chromatin schlechthin. Den acidophilen Bestandteil des Kernes berührte ich mehr oben hin. Auch Goldschmidt und Popoff[2]) scheinen an tierischen Zellkernen dieselben Überbrückungen wie Stauffacher und ich gesehen zu haben. Diese Autoren bemerken gelegentlich der Entwicklung der chromidialen Körner und Stäbchen (auch hier ist basophile Substanz verstanden) im Cytoplasma: . . . »noch bleibt aber der Zusammenhang mit dem Kerne kenntlich durch eine vermittelnde Verbindungsbrücke«. Die Beobachtung von Jörgensen[3]), daß es ihm gelungen sei, ». . . eine Art von Fortsetzung des außerhalb des Kernes liegenden Chromidialstranges in das Innere des Kernes« festzustellen, kann vielleicht auch auf Brücken zurückgeführt werden, beziehungsweise auf die intranuclearen »achromatischen« Bahnen des Kernes. Allerdings hat Jörgensen diese Verbindung nur einmal beobachten können. W. Knoll[4]) hat bei den polymorphkernigen Leucocyten des Blutes und des roten Knochenmarks gesunder und kranker Menschen schon bei lebenden Zellen die äußeren Kernbrücken als feine Fäden ohne Grenze gegen den Kern hin abtretend, gesehen. Leider konnte ich einen Einblick in die Originalabhandlung des Autors nicht gewinnen, so daß ich auf das Referat der Arbeit angewiesen war. Jedenfalls drängten die Beobachtungen Stauffachers und Knolls zu weiteren vergleichenden Studien an Pflanzenzellen. Im großen und ganzen bestätigen die gewonnenen Ergebnisse die Beobachtungen der Autoren auch für das Pflanzenreich.

II. Eigne Beobachtungen.

a) Technisches. Um einwandfreie Präparate zu erhalten, wurde überall da, wo es anging, lebendes Material zur Kontrolle benutzt. Für Schnittpräparate eignete sich 99½%iger Alkohol und die verbesserte

[1]) Man stoße sich nicht an dem Ausdruck »Chromatinkorn«, es können ebensogut Tröpfchen einer labileren Masse sein.

[2]) »Die Karyokinese der Protozoen usw. (Abdr. a. Arch. f. Protistenk. VIII, S. 329. 1907).

[3]) »Beiträge zur Kenntnis der Eibildung, Reifung, Befruchtung usw. (Arch. f. Zellforsch. 4. 1910).

[4]) Bestehen direkte mit unseren Hilfsmitteln darstellbare Verbindungen zwischen Kern und Cytoplasma?«. (Ref. i. Centralbl. f. allgemein. und experiment. Biol. Bd. I. 11—12. 1910).

Carnoy-Mischung zur Fixierung am besten. Die Gefahr also, daß Artefacte als organisierte Bestandteile der Zelle beschrieben werden konnten, konnte als eliminiert angesehen werden. Die einzige Veränderung, die ich infolge der Abtötung beobachtete, machte sich in einer geringen Verengerung oder auch Erweiterung des Kernhofs geltend. Diese Alteration konnte jedoch den organischen Zusammenhang der einzelnen Teile nicht schädigen. Gefärbt wurde besonders mit Ehrlich-Biondischer Mischung sowie mit Eisenhämatoxylin, Kongorot bzw. Eosin-Toluidinblau eignet sich wegen der scharfen Differenzierung der Granula also der basichromatischen Körnchen, ebenfalls vorzüglich. Ehrlich-Biondi-Färbung hervorragend zur Differenzierung der Kernsubstanzen, gab hier und da Versager. Dies liegt jedoch nur an der nicht ganz sorgfältigen Vorbehandlung des Materials. Die Güte des Bendaschen Eisenhämatoxylinverfahrens mit Kongonachfärbung, welche auch G. Eisen[1]) bei Oocyten anwendete, lernte ich schon früher für Pflanzenzellen schätzen. Außer den zahlreichen Beobachtungen in vivo wurden auch intravitale Färbungen mit Neutralrot und 2%iger Methylenblaulösung vorgenommen. Trotz mancher Vorzüge lassen aber derartig behandelte Präparate doch die gewohnte Schärfe vermissen. — Zum Studium eigneten sich besonders Epidermen und protoplasmatische Wandbelege, weil sie der Mißhandlung von Messer und Paraffin nicht ausgesetzt zu werden brauchten. Jedoch wurden auch sorgfältig behandelte Serienschnitte in die Beobachtungen einbezogen. Ferner gelangten Embryosackanlagen, somatische Zellen, Pollenzellen zur Beobachtung.

b) Zellen im Ruhezustande. Beobachtet man bei sehr starker Vergrößerung lebende ruhende Zellen, so läßt sich stets bei richtiger Einstellung des Mikroskops ein mehr oder weniger lichtbrechender Hof um den Kern wahrnehmen, der sich deutlich von dem meist sehr feinwabigen Plasma abhebt (Fig. 1—4). Die Kontur des Kernes ist unterbrochen und besitzt keine Spur einer kontinuierlichen Grenze gegen den Hof hin. Die Rundung wird von schattiert erscheinenden Chromatinkörperchen und helleren Partien gebildet, welche zwischen den ersteren liegen. Die Anordnung der dunkler erscheinenden Chromatinkörner zeigt einen ziemlich regelmäßig radialen Verlauf auf den Nucleolus hin. Untereinander sind sie durch das Kerngerüst verbunden, auch die Größe ist ziemlich dieselbe. Nie konnte ich Verschmelzungen dieser chromatischen Körperchen in vivo beobachten, dagegen häufig in fixierten Präparaten,

[1]) The spermatogenesis of Batrochoseps, polymorphous cells etc. (Journ. of morph. Vol. XVII. 1900).

wo infolge quellender Eigenschaften der Fixierungsflüssigkeit leicht »Verklumpungen« eintreten können. Ich erinnere hier an die artifizierenden Wirkungen der Sublimat enthaltenden Einlegeflüssigkeiten. Die radiäre Anordnung der Chromatinzüge kann durch ebenerwähnte Verklumpungen völlig gestört werden. Die Fühlung dieser Chromatinzüge mit dem Nucleolus wird durch »innere Brücken« hergestellt, welche ebenfalls einen Hof durchqueren. Auf diese Weise erhält der Nucleolus in lebenden Zellen ein sternförmiges Äußere. Am deutlichsten tritt diese radiäre Anordnung in Kernen mit einem Nucleolus hervor und zumal, wenn dieselben rund sind. Ziemlich parallel mit den Chromatinzügen laufen nun stark lichtbrechende intranucleare Bahnen, die ebenfalls nach dem Kerninnern zu auf den Nucleolus orientiert sind. Diese hellen Züge treten am Kernrande zwischen zwei flankierenden Chromatinkörnern mit einer konisch sich verjüngenden Spitze durch den äußeren Hof hindurch und enden stets auf den Scheitel zweier Wabenwände des Plasmas. Hier kann man stets ein basophiles Körnchen beobachten. Der Kern ist daher mittels dieser Brücken gewissermaßen im Plasma suspendiert, und auf diese Art mit seiner ganzen Oberfläche in innigem organischem Zusammenhange mit ihm. Stellt man auf verschiedene optische Ebenen ein, so kommen nach und nach eine ganze Anzahl solcher Überbrückungen zum Vorschein. Auf Schnittpräparaten sieht man nur die Brücken, welche gerade in die Schnittfläche fielen (Fig. 3, 5, 6). Sind nun mehrere Nucleolen im Kern vorhanden, wie z. B. bei *Fritillaria imperialis*, so tritt die konzentrische Anordnung der Chromatinzüge, wie die der zwischen ihnen liegenden intranuclearen helleren Bahnen nicht so deutlich hervor. Jedoch kann man in den Territorien des Kernes, wo ein Nucleolus liegt, die Richtung der Chromatin- und der helleren Züge auf diesen erkennen. Für die Individualitätslehre der Chromosomen scheint mir dieser Umstand nicht unwesentlich zu sein. — An oblongen und runden Kernen laufen die Brücken auch manchmal schief durch den Hof (Fig. 11). Das »Kernbrückenendkörnchen« war an lebendem Materiale jedoch nicht immer zu sehen, wohl aber stets an fixiertem. Dieselbe Beobachtung machte auch Knoll[1]). Einseitige Tinktionen z. B. mit Eisenhämatoxylin lassen nun die helleren intranuclearen Bahnen ungefärbt, und sie erscheinen deshalb wie »ausgespart«, wie Knoll treffend bemerkt. Hierdurch entsteht ohne Zweifel eine unrichtige Auffassung über die Natur dieser »achromatischen« Teile des Kernes. Gute Doppelfärbungen, z. B. Ehrlich-Biondi-Tinktion, zeigen diese achromatischen Bahnen

[1]) l. c. S. 375.

schön rot gefärbt, reagieren also auf den sauren Farbstoff, und kennzeichnen sie als ziemlich derbe massige Stränge. Man erhält auf diese Weise ein sehr anschauliches Bild von der Verteilung der beiden Kernsubstanzen in der Zelle. Die acidophile Substanz füllt das Innere der Nucleolen, gelangt auf das Kernreticulum und die intranuclearen Bahnen mittels der inneren Brücken, tritt in die äußeren Brücken über und gelangt von dort auf die Wände der Plasmawaben. Das Plasma färbt sich nach und nach acidophil. Basophil ist die äußere Schicht der Nucleolen, von dort gelangen basophile Körnchen auf das Kernreticulum, setzen sich gelegentlich an den Kreuzungspunkten derselben fest und gelangen auf dem Wege der oxychromatischen Bahnen ebenfalls ins Plasma. Mit STAUFFACHER dürfen wir wohl annehmen, daß die basophil sich verhaltenden »Mikrosomen« des Plasmas der äußeren Schicht des Nucleolus entstammen. Daß das Oxychromatin des Plasmas identisch mit dem der Nucleolen ist, dürfte wohl sicher sein. Schon die nach den Plasmawaben hin sich konisch verjüngenden Brücken lassen mit diesem Autor ein Abströmen des Oxychromatins vom Kerninnern aus annehmen (Fig. 1, 8, 9, 10, 16). Bisweilen gestatten es günstige Umstände, den Verlauf der acidophilen Substanz vom Nucleolus bis zum Plasma ununterbrochen zu verfolgen. Stets kann man ein basophiles Körnchen an der Spitze der Brücke beobachten. Passiert gerade viel basisch sich verhaltende Kernsubstanz die Brücken, sowohl äußere wie innere, so färben sie sich mischfarben. Bisweilen schien es mir, als ob auch der Wabeninhalt des Plasmas acidophil reagierte, wenigstens der Färbung nach zu urteilen. Dasselbe ist von STAUFFACHER[1]) an der Umgebung des vegetativen Kernes der Pollenkörner von *Lilium croceum* beobachtet worden. Die Färbung des Wabeninhalts des Plasmas mit oxychromatischer Substanz deutet auf eine völlige Durchdringung desselben mittels zartester Fäserchen (vgl. daselbst die Fig. 54, 60, 62, 66, 79).

Schon früher hatte ich über den Verteilungsmodus von Linin und Chromatin bei der Entstehung der Karyomeriten in dem Wandbelege von *Fritillaria imperialis* berichtet[2]). Zunächst prävaliert das Oxychromatin. Es häufte sich an einigen Knotenpunkten des Kerngerüstes an und bildete Lininkomplexe, also größere und kleinere Grundlagen der Nucleolen. Diese Grundlagen, von EISEN[3]) auch »Linosomen« genannt, vereinigen sich zu dem echten Nucleolus. Auf diesem scheidet sich dann erst das

[1]) l. c. Fig. 29, Taf. II.

[2]) Über Analogien pflanzl. und tier. Zellstrukturen. (Beih. bot. Centralbl. XXII. 2. 1907.)

[3]) l. c.

basophile Chromatin ab, das dann in der oben geschilderten Weise auf Kerngerüst und Plasmawaben verteilt wird. — Das Abströmen chromatischer Substanz aus dem Karyosom (Nucleolus) in den Kern in Form »schlierender« Fäden, beschreibt Moroff[1]) für junge Entwicklungszustände des Parasiten *Aggregata légeri*. Ob nun diese Fäden vorwiegend oxychromatischer oder basophiler Natur sind, bemerkt der Autor zwar nicht, vielleicht, weil er eine scharfe Unterscheidung dieser beiden Substanzen des Kernes nicht für zulässig hält und eben nur eine Substanz annimmt, die je nach den obwaltenden Bedürfnissen bald sauere bald basische Eigenschaften annimmt. Jedenfalls geht aus den sorgfältigen und umfangreichen Untersuchungen Moroffs hervor, daß in den Wachstums- und Reifungsperioden junger Aggregaten das Oxychromatin von hervorragender Bedeutung ist. Innere Kernbrücken, vom Karyosoma ausgehend, gibt der Autor nicht an, beschreibt jedoch Kanäle der basichromatischen Rindenschicht desselben, durch welche die schlierende Masse abströmt. In Fig. 15 und 17 seiner Abhandlung lassen sich jedoch brückenartige Fortsätze vermuten. Angesichts der vorliegenden Tatsachen glaube ich, mich dahin zusammenfassen zu können, daß dem Stoffaustausch zwischen Kern und Plasma bestimmte Bahnen dienen, auf welchen die Kernsubstanzen nach dem Orte ihrer Bestimmung gelangen können. Eine Kernmembran im hergebrachten Sinne dürfte unter solchen Umständen nicht nur völlig überflüssig erscheinen, sondern wie Knoll[2]) treffend bemerkt, geradezu ein Hemmnis bedeuten.

Nach meiner Auffassung der Dinge dürfte deshalb die bisherige Anschauung vom Wesen des Kernes und seinem Verhalten zum Plasma dahin eine gewisse Verschiebung erfahren, daß man den Kern als einen bestimmten Plasmabezirk anzusehen hätte, der allein imstande ist, die beiden Chromatinarten hervorzubringen. Schon oben wurde bemerkt, daß die acidophile Substanz auch die Waben des Plasmas selbst durchtränkt. Dies Phänomen ist mir schon früher an Wandbelegen von *Fritillaria* aufgefallen[3]). Plasma und acidophile Kernmasse durchdringen sich derartig, daß bei allen sich abspielenden Lebensprozessen der Pflanzenzelle die Funktion der sogenannten »plasmatischen Grundsubstanz« nicht mehr festzustellen ist. Man gewinnt zum mindesten den Eindruck, daß dem sauer sich verhaltenden Bestandteile des Kernes, dem Nuclein, eine

---

[1]) Die bei den Cephalopoden vorkommenden *Aggregata*-Arten usw. (Sep.-Abdr. a. Arch. f. Protistenkunde. Bd. XI. 1908. S. 29).

[2]) l. c. S. 375.

[3]) l. c.

Hauptrolle, wenn nicht die Hauptrolle bei allen vitalen Vorgängen in der pflanzlichen, wie der tierischen Zelle zufällt.

c) Mitotisches. In frühen Prophasen setzt die Spindelbildung in eigenartiger Weise ein. Man bemerkt eine starke Anhäufung Oxychromatins in denjenigen Wandungen der Plasmawaben, welche unmittelbar das »Kernbrückenendkörnchen« einschließen (Fig. 9, 11). Die unmittelbare Umgebung des letzteren erscheint wie der Kernhof stark lichtbrechend. Besonders klare Darstellungen dieser »rädchenartigen« Gebilde hat Stauffacher[1]) aus den Leberzellen des menschlichen Embryos gegeben. Diese Gebilde beobachtete ich im Jahre 1906[2]) und hielt sie für Körper, die den Sphären gleichzusetzen seien. Sie erscheinen übrigens an verschiedenen Stellen des Kernes in frühen Prophasen und lassen infolge ihrer starken Lichtbrechung leicht die irrtümliche Annahme von soliden Körpern aufkommen. Diese radartigen Anfänge der Spindelanlagen sind anfangs unregelmäßig an der Kontur des Kernes verteilt. Anfangs multipolar, werden sie bald bis auf zwei diametral gegenüberliegende Anlagen wieder eingezogen (Fig. 11, 17).

Die Bildung der bipolaren Spindel geht nun durchaus nicht immer gleichmäßig von statten (Fig. 11, 19). Während die Entwicklung des einen Spindelkomplexes schon relativ vorgeschritten ist, kann der andere noch im Stadium der rädchenartigen Anfangsbildung sich befinden. Die oxychromatische Masse des vorgeschrittenen Spindelkomplexes beginnt seine Kontraktilität bereits auf den Kern zu äußern. Es entsteht eine flaschenförmige Figur, die nach dem entwickelten Spindelkomplex hin ausgezogen erscheint (Fig. 11, 19). Die Zugwirkung läßt sich sehr gut an dem Verlauf der intranuclearen Bahnen verfolgen, welcher in seiner Richtung mit ersterer zusammenfällt. Da auf dem entgegengesetzten Pol noch nicht genügend Oxychromatin behufs Spindelbildung ausgetreten ist, sehen wir daselbst auch die eben beschriebene Zugwirkung auf den Kerninhalt noch nicht. Der weitere Ausbau des Spindelkomplexes besteht im weiteren Abströmen von oxychromatischer und basophiler Substanz auf die Wabenwände des Plasmas. Die Spindelfigur besteht also meines Erachtens aus dem oxychromatisch durchtränkten Wabenwerk des Protoplasmas, wie ja auch Stauffacher annimmt. Das definitive charakteristische Gepräge erhält dieser Komplex erst durch die kontraktilen Wirkungen des Oxychromatins. Besondere fibrilläre Grundlagen, aus denen sich die Spindel herausdifferenzieren könnte, sind nicht vor-

[1]) l. c. S. 83.

[2]) Über Analogien pflanzl. und tier. Zellstrukturen (Beih. bot. Centralbl. XXII, 2. 1907).

handen. Wir haben es lediglich mit einer lokalen morphologischen Umgestaltung der Plasmawaben durch Kontraktion des in ihnen enthaltenen Nucleins zu tun. — Die Grundlage für die Chromosomen bilden die intranuclearen oxychromatischen Bahnen, welche mittels der inneren Brücken, wie bereits erwähnt, mit den Nucleolen in Verbindung stehen. Ist nun bereits genügend viel Oxychromatin auf die Plasmawaben übergetreten, so muß sich, nach meinem Dafürhalten, dessen zusammenziehende Wirkung mittels der äußeren Brücken auch auf den Inhalt der Nucleolen äußern. Es folgt nun ein Anschwellen dieser oxychromatischen Bahnen infolge von Aufnahme der Nucleolarsubstanz. Im weiteren Verlauf der Chromosomenbildung werden die Nucleolen bis zu einem gewissen Grade resorbiert. Schnitte von Diakinesenstadien der Pollenmutterzellen zeigen häufig noch Partikel von Nucleolen, welche an den Chromosomen haften. Die früher erwähnten Chromatinzüge des ruhenden Kernes dürften in die acidophile Grundmasse der Chromosomen ohne Veränderung einbezogen werden. Man sieht nämlich die Anordnung der basophilen Körner in derselben Weise erhalten, wie sie im Ruhezustande des Kernes war. Die Chromosomen selbst sind von einem helleren Hofe umgeben, an den unmittelbar die Wabenstruktur ansetzt (Fig. 20). Dieser Hof wird von oxychromatisch gefärbten Brücken durchquert, welche ziemlich regelmäßig zwischen zwei basischen Chromatinkörnern des Chromosoms ihren Ursprung nehmen. Was nun die Anordnung der Chromosomen in der Äquatorialebene der Spindel anlangt, so walten hier ohne Zweifel Zugkräfte recht komplizierter Art. Jedoch glaube ich, wie schon oben bemerkt, daß an dem Zustandekommen der Kernplatte auch die den Chromosomen anhaftenden Nucleolen beteiligt sind. Stauffacher[1]) ist derselben Ansicht. Der Autor betont: »Meiner Ansicht nach dürfte die Ordnung der färbbaren Kernbestandteile zum äquatorialen Ring in allererster Linie dem Kernkörperchen zugeschrieben werden.«

Die Chromosomen sind während des ganzen Verlaufs der Kernteilung mittels der Brücken an die Plasmawaben gefesselt, so daß von einer autonomen Fortbewegung derselben nach den Polen nicht die Rede sein kann. Vielmehr dürften sie durch das mehr und mehr sich kontrahierende Oxychromatin der Spindelanlage, mit welcher sie ja organisch verbunden sind, an Ort und Stelle gelangen. Es ist also nach den Polen verlegte Nucleolarsubstanz und zwar acidophile, welche diesen Vorgang durchführt. Strasburger[2]) läßt die Chromosomen durch Verkürzung der

[1]) »Einiges über Zell- und Kernstrukturen«. (Sonderabdr. a. Zeitschr. f. wiss. Zool. LXXIII. 3. S. 370. 1903.)

[2]) »Die Ontogenie der Zelle seit 1875«. (Progressus, I. 1907.)

Zugfasern infolge von nucleolarer Substanzabgabe allmählich nach den Polen gelangen. Er scheint dabei den basichromatisch sich verhaltenden Teil der Nucleolen zu meinen. Tatsächlich tritt aber auch viel acidophile Substanz in die Nachbarschaft der Spindelpole über, in Gestalt zerstreut liegender Komplexe, welche auch basophile Körner enthalten. Diese Gruppen könnte man als »Attraktionscentren« vielleicht ansprechen, (Fig. 20—23). In den Ana- bzw. Telophasenstadien nehmen diese oxybasichromatischen Ausscheidungen in das Plasma stetig zu. Vielleicht herrscht eine Beziehung zwischen der Zahl der Nucleolen des Mutterkerns und der Zahl dieser in der Umgebung der Pole sich vorfindenden Anhäufungen. Bei sich teilenden *Fritillaria*-Kernen, welche oft acht bis neun Nucleolen besitzen, findet sich ungefähr dieselbe Zahl dieser Ansammlungen an den Polen wieder. Funktionell möchte ich sie als »Attraktionscentren« betrachten und sie für junge Nucleolenanlagen halten, die Grundlagen der werdenden Tochterkerne darstellend. Auf jeden Nucleolus würden dann wieder dieselbe Anzahl von Chromosomen fallen, wie im Mutterkerne. Die Neuanlagen entsprechen vielleicht den »Chromatinknoten« K. Bonnevies[1]). Eine genaue zahlenmäßige Übereinstimmung dieser Anlagen mit den Nucleolen des Mutterkerns ließ sich leider nicht feststellen, jedoch würde der Nachweis einer solchen sehr zu gunsten der Individualitätslehre der Chromosomen ins Gewicht fallen. — Die Chromosomen verlieren im Laufe ihrer Entwicklung die unregelmäßigen zackigen Formen und nehmen das Aussehen von Schläuchen an. Daß sie in diesem Stadium eine festere Hülle besitzen, konnte ich an Teilungsfiguren beobachten, deren Chromosomen infolge einer Pilzinfektion ihres Inhalts völlig beraubt waren, so daß nur die leeren Hüllen übrig blieben[2]).

d) Oxychromatin und Basichromatin in Embryosackanlagen. Gut mit Ehrlich-Biondischer Farbstofflösung behandelte Schnitte von Embryosackanlagen färben sich intensiv rot, während in den umgebenden somatischen Zellen des Nucellus die basophile Reaktion vorwiegt. Der Gehalt an Nuclein dieser Zellen ist sehr gering. Es lag nahe, anzunehmen, daß der gewaltige Überschuß an acidophiler Substanz nur aus nächster Umgebung stammen konnte. (*Lilium Martagon*, *Fritillaria imperialis*.) Bei sehr starker Vergrößerung können acidophil sich färbende Brücken der benachbarten somatischen Zellkerne beobachtet

[1]) »Chromosomenstudien III«. Arch. f. Zellf. Bd. VI. Hft. 2. S. 195. Vgl. d. Fig. 3, 14, 15, Taf. X u. XI. 1910.

[2]) v. Derschau, »Über Analogien pflanzl. und tier. Zellstrukturen«. (Beih. bot. Centralbl. XXII. 2. 1907. S. 175.)

werden, welche das Nuclein in das Plasma und von dort durch die Zellmembran in die Embryosackmutterzelle ergießen. Dies ist natürlich nur da zu sehen, wo die Embryosackmutterzelle noch in Kontakt mit den umgebenden somatischen Zellen steht. Wir werden später sehen, wie sehr dieser so selbstverständliche Punkt bei gewöhnlich sterilen Pflanzen und sterilen Hybriden ins Gewicht fällt. In ganz junge Embryosackanlagen strömt das Nuclein mit einer gewissen Energie über, der Hauptstrom hält streng centripetale Richtung auf den primären Kern ein. Die seitlichen Verzweigungen des Nucleins verteilen sich auf die Wabenwände im Plasma. Die sogenannten »ergastoplasmatischen« Gebilde, die von M. und P. Bouin[1]) als Cytoplasmastrukturen für die Embryosackmutterzellen bei Liliaceen beschrieben, und auch in jungen ♀-Anlagen anderer Pflanzen von Dixon[2]), Mottier[3]), Juel[4]) gesehen wurden, dürften auf Plasmawaben zurückzuführen sein, die mit Oxychromatin und basichromen Körnchen durchtränkt sind. Auch die »Cytoastern« möchte ich dahin rechnen, die ja auch gewöhnlich in den jungen Phasen der Embryosackanlagen im Plasma zu sehen sind. Juel bemerkt, daß dieses »Faserplasma« sich auch etwas stärker als das übrige Plasma färbe. Strasburger führt diese Gebilde auf die kinoplasmatischen Fäden zurück, die in solchen Fällen besonders reichlich aufträten. Nach meinem Dafürhalten wären nun unter »Kinoplasma« Protoplasmawaben zu verstehen, die mit Oxychromatin imbibiert sind und auch basophile Körnchen aufweisen. Die durch Wärmeeinwirkung künstlich geförderte Entwicklung dieser plasmatischen Gebilde in Wurzelspitzen von *Vicia faba*[5]) sind wohl der Hauptsache nach Nucleinsubstanz des Kernes.

Junge Embryosackanlagen sind mit der sauer sich verhaltenden Kernsubstanz der benachbarten somatischen Zellen geradezu überschwemmt. Besonders reich an Nuclein erscheinen auch die Nucleolen des jungen Embryosackmutterzellkerns. Man gewinnt den Eindruck, als wenn überhaupt nur diese Substanz, basisch sich verhaltende Masse nur spärlich oder gar nicht einwandert. Daß das Oxychromatin überwiegt,

[1]) Sur la présence de filaments particuliers dans le protoplasme de la cellule-mère du sac embryonnaire. Bibliographie anatomique. 1898.

[2]) On the Chromosomes of *Lilium longiflorum*. (Proceedings of the Royal Irish Acad. 3. Ser. Vol. III. 1895. p. 716.)

[3]) Über das Verhalten der Kerne bei der Entwicklung des Embryosacks usw. (Jahrb. f. wiss. Bot. XXXI. 1898. S. 126.)

[4]) Beiträge zur Kenntnis der Tetradenteilung. I. Die Tetradenteilung in der Samenanlage von *Larix*. (Jahrb. f. wiss. Bot. XXXV. 1900. S. 634.)

[5]) Beob. v. Hottes, Ber. bei Strasburger Über Reduktionsteilung, Spindelbildung usw. Hist. Beitr. 1900. S. 143.

kann leicht durch »Verdauungsversuche« nachgewiesen werden. Die in Wasser ausgewaschenen Schnitte von Embryosackanlagen werden für 1—2 Minuten in eine Mischung von Pepsin-Glyzerin und 0,2% HCl gebracht. Nach dem Auswaschen mit Wasser färbt man mit Ehrlich-Biondi. Die satte hellrote Färbung ist verschwunden und hat einer matten blaßroten Platz gemacht. Die Anlage zeigt nunmehr nach Entfernung des Oxychromatins auch in allen Teilen das ursprüngliche Basichromatin wieder. Ohne Zweifel dient hier die Nucleinsubstanz somatischer Zellkerne trophischen Zwecken und zwar zur Ausbildung des Eiapparats. Mit dem Heranwachsen der Anlagen während der Reifungsperiode vermindert sich der Nucleingehalt beträchtlich und scheint, nach Färbungen zu urteilen, mit der Fertigstellung des Eiapparats erschöpft zu sein. Die acidophile Tinktion fällt jetzt sehr matt aus. Es scheint also das Kern-Nuclein die vegetativen Prozesse des Wachstums und des Stoffwechsels zu beherrschen.

Untersucht man junge Embryosackanlagen steriler Pflanzen (*Yucca*, *Hemerocallis*) so fällt zunächst der Mangel an Nuclein auf. Die Nucelluszellen reagieren wie die Embryosackmutterzellen vorwiegend basichromatisch. Die Präparate hatten den matten Farbenton der mit Pepsin-Glyzerin behandelten. Hiermit ist nun, nach meinen Präparaten zu urteilen, stets eine Wachstumsstörung der Embryosackmutterzelle verbunden. Letztere selbst erscheint geschrumpft und der Kontakt der Zellmembranen mit denen der somatischen Zellen der Umgebung ist frühzeitig gelockert, so daß Intercellularräume entstehen. Bei sterilen Bastardpflanzen hat nun Tischler[1]) dieselbe Beobachtung gemacht und ein Lockerwerden des ♀ und ♂ Archespors beobachtet. Er deutet dies Phänomen dahin, daß die Archesporzellen sowohl beim ♂ als auch beim ♀ Geschlecht nicht in dem Maße zu wachsen vermögen wie die vegetativen Zellen der Umgebung. Es scheint also hier dieselbe Tatsache vorzuliegen wie bei *Yucca* und *Hemerocallis*. Die mangelnde geschlossene Verbindung der Eianlage mit den somatischen Zellen der Umgebung verhindert den Übertritt an Nuclein. Diese Erscheinungen dürften aber ihren tieferen Grund in Vorgängen zu haben, die Lindemuth[2]) beobachtete. Der Autor konstatierte gewisse Wechselbeziehungen zwischen Blütenschaft und Zwiebel bei gewöhnlich sterilen Pflanzenarten. Er stellte fest, daß bei *Lachenalia luteola*, *Lilium candidum* in normaler Kultur trotz sorgfältiger Bestäubung keine entwicklungsfähigen

[1]) »Zellstudien an sterilen Bastardpflanzen«. (Sonderabdruck a. Arch. f. Zellf. Bd. I. Hft. I. 1908.)

[2]) Über Samenbildung an abgeschnittenen Blütenständen einiger sonst steriler Pflanzenarten. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. Bd. XIV. S. 244—46. 1890.)

Samen erzielt werden konnten. Wurden jedoch Blütenschäfte dicht über der Zwiebel abgeschnitten und in Wasser gestellt, so konnte eine größere Anzahl keimfähiger Samen zur Entwicklung gebracht werden. Nach Krelage soll, wie Lindemuth bemerkt, »das Nichtreifwerden« auf dem Zurückwandern der im Stengel enthaltenen Nährstoffe nach der Zwiebel beruhen, zur Kräftigung derselben durch Ablagerung von Reservestoffen. Die Bildung von Bulbillen am Rande der Schnittfläche deutet ja auch auf eine Aufspeicherung von vorhandenem Nährmaterial hin. Diese Rückwanderung wird sich zuerst in jüngsten Pollen- und Embryosackzellen bemerkbar machen, darauf allmählich auch in den ernährenden somatischen Zellkomplexen der Umgebung. Jedenfalls müßte, um auf fortpflanzungsfähige Samen rechnen zu können, das Abschneiden der Blütenschäfte noch zu einer Zeit geschehen, wo im Nucellus noch keine Lockerung des Gewebeverbandes stattgefunden hat. Ich habe Blütenschäfte von *Iris florentina*, *pseudacorus*, *germanica*, *sambucina* noch lange vor Öffnung der Knospen in Wasser gestellt und sorgfältig bestäubt, aber nie einen reifen Samen erzielen können. Vielleicht hatte da schon der Abstieg der Nährstoffe nach den Rhizomen eingesetzt. In einem Falle beobachtete ich allerdings ein nachträgliches Anschwellen des Nucellus, das war aber auch alles. Das starke »Luxurieren« der vegetativen Teile von *Digitalis*-Hybriden fällt zeitlich mit dem resultatlosen Verlauf der Blüten zusammen. Auch hier dürfte die Sterilität auf ein frühzeitiges Abströmen von Nucleinsubstanz nach den vegetativen Teilen hin, beruhen. Wasserkulturen wären nach dieser Richtung immerhin von Interesse. — Mit beendeter Entwicklung des Eiapparats hat nun das Wachstum desselben aus vorhin erwähnten Gründen einen Stillstand erfahren. Sämtliches verfügbare Oxychromatin von Kern und Plasma wurde aufgebraucht. Da die Reifungserscheinungen des tierischen Eies mit analogen Differenzierungsvorgängen verknüpft ist, ist nach Beendigungen der ersteren ebenfalls ein vorübergehender Wachstumsstillstand die Folge.

e) Pollenzellen. In Pollenzellen fällt, wie schon Stauffacher[1]) beobachtete, eine verschiedene Verteilung der basischen und der sauer sich verhaltenden Substanz in den Kernen auf. Der vegetative Kern zeigt vorwiegend basisches Verhalten, während der generative überwiegend Oxychromatin enthält. Das Verhalten ist also dasselbe, wie wir es bei den somatischen Kernen und dem Embryosackmutterzellkern in den früheren Stadien kennen gelernt haben. Der reichliche Nucleingehalt

[1]) l. c. S. 25.

des generativen Kernes entspricht vollkommen den der tierischen Samenzelle. Von Interesse ist hier die Lagerung der Kerne im Pollenschlauch. Im vorderen Ende liegt der vegetative, etwa da, wo die Wachstumszone des Schlauches ist. Sein Oxychromatingehalt ist gering, scheint aber zur Ausbildung des Pollenschlauchs zu genügen. In gewisser Entfernung liegen die beiden generativen Kerne mit reichem Nucleingehalt. Die Eizelle bedarf eben dieser Substanz zur Wiedererlangung des Wachstums, welches mit der Verschmelzung der beiden Geschlechtszellen von neuem anhebt. Auch der tierische Samenkern enthält vorwiegend Oxychromatin. Die überwiegende Verwendung von Kernnuclein bei den sexuellen Vorgängen legt die Vermutung nahe, ob nicht vielleicht diese Substanz als Vererbungsgrundlage hauptsächlich in Betracht kommt.

f) Anomalien bei der Pollenbildung hybrider Pflanzen. Die Sterilität der Bastarde wurde von Juel[1]) und Tischler[2]) von der cytologischen Seite sehr sorgfältig durchforscht. Vergleiche mit den entsprechenden normal sich abwickelnden Vorgängen ergaben eine Reihe auffallender Unregelmäßigkeiten bei der Pollenentwicklung der Hybriden. Da sie besonders die Plasmabeschaffenheit und die Kernstrukturen betreffen, interessieren uns dieselben soweit als Beziehungen zu den Kernsubstanzen hierbei in Frage kommen dürften. Juel[3]) bemerkt nun, daß Bastarde unter Umständen fertil sein können. Es scheine deshalb die Funktion der Fortpflanzung nicht unterdrückt zu sein, aber doch auf gewisse Hindernisse zu stoßen, welche zuweilen überwunden werden könnten. Nun, die vorher erwähnten Lindemuthschen Beobachtungen an gewöhnlich sterilen Pflanzen zeigen, daß bei frühzeitiger Eliminierung der wirkenden Hindernisse doch Fertilität erzielt werden kann. Allerdings waren die Lindemuthschen Pflanzen keine eigentlichen Hybriden, verhielten sich aber in normalen Verhältnissen wie diese. Da ich annehme, daß sich bei den Hybriden ebenfalls ein frühzeitiges Abströmen der Nährstoffe (Nuclein) nach den vegetativen Pflanzenteilen bemerkbar macht, erklären sich auch die Störungen, die in einer Reihe von vorbereitenden Erscheinungen (Pollenbildung, Embryosackbildung), auftreten. Auch Juel[4]) meint, daß die Störungen beim Verlaufe der Tetradenteilung vielleicht auf einen abweichenden Bau des hybriden

[1]) »Beiträge zur Kenntnis der Tetradenteilung«. (Sep.-Abdr. a. Jahrb. f. wiss. Bot. XXXV. Hft. 4. 1900.)

[2]) Zellstudien an sterilen Bastardpflanzen. (Sonderabdr. a. Arch. f. Zellf. I. Hft. 1. 1908.)

[3]) l. c. S. 638.

[4]) l. c. S. 639.

Plasmas zurückgeführt werden können. Dies dürfte sich mit unseren Anschauungen decken, indem gewissermaßen durch den Mangel an Oxychromatin das Plasma einen Entartungszustand aufweist. Die Folgen kommen in den bekannten Anomalien zum Ausdruck. Diese beginnen nach Tischler[1]) mit dem Auftreten von Intercellularräumen zwischen den Archesporzellen (*Mirabilis jalapa* × *tubifl.*). Der Autor erklärt dies Phänomen als einen Wachstumsstillstand der Archesporzellen bei vorläufigem Weiterwachsen der Zellen im Umkreise. Ohne Zweifel deutet diese Erscheinung auf allmähliche Nährstoffentziehung seitens der vegetativen Teile der Pflanze hin. Bei *Yucca filamentosa* konnte ich mittels Ehrlich-Biondi-Färbung an jüngsten Embryosackanlagen diesen Vorgang verfolgen, neben der Bildung von intercellularen Räumen trat eine auffallende matte Färbung des Mutterzellplasmas ein, während die nächstliegenden somatischen Zellen noch ziemlich »unentmischtes« Plasma enthielten. Die Mutterzelle schrumpfte bald zusammen. Allmählich färbten sich auch die umgebenden Nucelluszellen sehr matt. Derartige Anlagen zeigten eine sehr schwache Nucleinfärbung, dagegen vorwiegend basophile Tinktion. Es träte demnach das Oxychromatin in weiter zurückliegende Gewebepartien zurück. Es will mir nun scheinen, als ob die ♀ generativen Anlagen unter dieser »Plasmaentmischung« früher und intensiver litten als die ♂ entsprechenden[2]).

Die ♀ Anlangen liegen unmittelbarer in der Hauptstrombahn der Nährstoffe als die Antheren. Auch erreicht in hybriden Pollenkammern ein gewisser, wenn auch kleiner Prozentsatz der Pollenkörner noch normale Ausbildung. Die von Tischler beobachtete Verlangsamung der Chromosomenverschmelzung, sowie das fehlende starke Kernwachstum vor einer Synapsis, sind meines Erachtens nach auch auf den Mangel an Oxychromatin im Plasma zurückzuführen. Basisches Chromatin ist in diesen Phasen gewöhnlich reichlich vorhanden. Die intranuclearen acidophil sich verhaltenden Bahnen enthalten zu wenig Nuclein, welcher Umstand wieder der rechtzeitigen Verschmelzung der Chromosomen hinderlich wäre. Wie Tischler[3]) bemerkt, tritt dies Phänomen erst etwa in der Diakinese ein, ein Zeichen, daß erst nach und nach die nötige Menge der fehlenden Kernsubstanz herbeigeschafft wird. Während dieser Anormalitäten ist das Plasma vacuolig, grobkörnig. Auf frühzeitige Entziehung von Plasma-

[1]) l. c. S. 39.
[2]) Dagegen Tischler, l. c. S. 34.
[3]) l. c. S. 63.

nährstoffen deuten die von Juel[1]) bei *Syringa rothomagensis* zu Kugeln zusammengezogenen Pollenmutterzellen hin. Bei der Stammform *Syringa vulgaris* konnte der Autor diese absterbenden Pollenmutterzellen nicht beobachten. Nicht geringeres Interesse bieten die Vorgänge bei der Spindelbildung. Juel[2]) stellte für *Syringa rothomagensis* fest, daß bei einer Anzahl in der ersten Mitose stehender Pollenmutterzellen keine Kernspindeln zur Ausbildung kommen, sondern die Teilung amitotisch erfolgte. Daneben zeigten sich Formen, wo Spindelfäden den sich durchschnürenden Kern einschlossen. Juel[3]) hält wohl mit Recht diesen Teilungsmodus für eine Art Mittelform zwischen Amitose und der mitotischen Teilung. Es war eben das zur Bildung einzelner weniger Spindelfasern erforderliche Nuclein noch vorhanden, reichte aber nicht mehr aus zur normalen Entwicklung der Spindel. Die dabei auftretende Durchschnürung wäre also als ein »Notbehelf« anzusehen. Auf eine Art »Lähmungserscheinung« des im Plasma verteilten Oxychromatins wäre vielleicht auch die Sistierung der Kern- und Zellteilung bei genügend intensiver Chloralisierung zurückzuführen, wie sie Němec[4]) für Wurzelspitzen beschreibt. Juel[5]) hat ohne Zweifel recht, wenn er annimmt, daß die Abnormität der Kernteilungen mehr der achromatischen (d. i. hier oxychromatischen) als der chromatischen (basophilen) Substanz beizumessen sei. Pollenmutterzellen (*S. rothomagensis*) hatten nach Juel bisweilen einen kleinen Kern im Verhältnis zum Zellraum, und da das Plasma »hell und durchsichtig« erschien, also nährstoffarm war, konnte der Kern auch nur ungenügend ernährt sein.

Die weiteren Beobachtungen des Autors bei der Bildung der Spindel, der unregelmäßige Verlauf der Fasern und ihre unvollkommene Ausbildung, lassen sich auf die schon des öfteren angegebene Ursache zurückführen. Die mangelhafte Beförderung der Chromosomen steht damit ohne Zweifel in engstem Zusammenhang. In normalen Fällen, wo ein wohl entwickelter Spindelkomplex vorhanden ist, genügt die daselbst deponierte Oxychromatinmenge, infolge ihrer stetigen kontraktilen Wirkung die Chromosomen nach den Polen zu befördern. Fehlt aber diese orientierende Kraft eben aus Mangel an dieser Substanz, so kann man schon verstehen, daß die Chromosomen nach verschiedenen Richtungen

[1]) l. c. S. 640.
[2]) l. c. S. 642.
[3]) l. c. S. 642.
[4]) »Das Problem der Befruchtungsvorgänge und andere cytologischer Fragen«. Berlin 1910.
[5]) l. c. S. 643.

aus der Kernhöhle hinausgetrieben werden, wie es Juel[1]) scheint. Tischler[2]) beobachtete bei der heterotypen Spindel (*Mirabilis jalapa* × *tubifl.*), daß der von ihr eingenommene Raum ziemlich plasmaleer gewesen sei. Ferner waren gleichzeitig die Chromosomen langgestreckt und dünn. Diese beiden Symptome deuten wieder auf den Mangel an Kernnuclein hin. Bezeichnend für die Anomalität im Verbrauch der verfügbaren Nährstoffe in sterilen Pollenkörnern ist die Schrumpfung des Inhalts mit gleichzeitigem Wachstum der Exine[3]). Die starke Entwicklung derselben geht auf Kosten alles noch verfügbaren Oxychromatins im Plasma vor sich. Vielleicht eine Art »Notschutz« gegen äußere Einwirkungen. Auch habe ich in Wandbelegen von *Fritillaria* während der Kernteilung und Zellbildung bei Eintritt nucleinarmen Plasmas beobachten können, wie alle irgendwie verfügbaren Nährstoffe, vor allem Nuclein, zur ersten Scheidewandbildung aufgewendet wurde. Es lag also das Bestreben vor, wenigstens bei Zeiten noch einen möglichsten Abschluß nach außen hin zu bewerkstelligen. Überhaupt findet bei Anlage von Scheidewänden in Wandbelegen, z. B. bei *Fritillaria*, eine ausgiebige Verwendung von Kernnuclein neben der von Basichromatin statt. Seinerzeit konnte ich bei dieser Pflanze sogar eine Näherung der Nucleolen der Tochterkerne auf die anzulegende Scheidewand zu beobachten[4]). Ist natürlich nicht genügend Kernnuclein mehr disponibel, so bleiben auch die Scheidewände unausgebildet und es entstehen z. B. nach Ausbildung der Pollenspezialzellen (*Mirabilis jalapa* × *tubifl.*) vierkernige Zellen[5]).

Hinsichtlich der Teilung der Dyadenkerne (*Potentilla Tabernaemonta* × *rubens*) bemerkt Tischler[6]), daß ein Dyadenkern noch ganz ungeteilt sein kann, während der zweite die nächste Mitose vollendet hat. Ich erkläre mir diesen Umstand aus der ungleichen Verteilung des verfügbaren Nucleins auf beide Kerne. Auch der Umstand, daß manchmal nicht alle Chromosomen in die Dyadenkerne einbezogen werden und »versprengte Chromosomen« entstehen, dürfte dem von Juel[7]) beobachteten Vorgange entsprechen. Die ungleiche Verteilung der Chromosomen auf die Tochterkerne ergibt sich aus dem Vergleiche mit dem entsprechenden normalen Vorgang. Ich hatte gelegentlich erwähnt, daß im letzteren

[1]) l. c. S. 644.

[2]) l. c. S. 43.

[3]) Tischler, l. c. S. 47.

[4]) v. Derschau, »Wanderung nucleolarer Substanz während der Karyokinese usw.« (Ber. Deutsch. bot. Ges. XXII. Hft. 8. 1904.)

[5]) Tischler, l. c. S. 44.

[6]) l. c. S. 77.

[7]) l. c. S. 644.

Falle die gesamte kontraktile oxychromatische Spindelmasse in innigem Zusammenhang mit den Chromosomen steht. Der sich äußernden Zugwirkung folgen alle Chromosomen gleichmäßig nach den beiden Polen. Ist dieser organische Zusammenhang infolge unzureichender Nucleinsubstanz unvollkommen, so wird sich auch die Zugwirkung in verschiedener Weise äußern. Ein Teil der Chromosomen wird zurückbleiben, ein anderer wird das Zeil erreicht haben, ehe die dritte Gruppe anlangt.

g) Zur Entwicklung der Chlorophyllkörner. Seinerzeit hatte ich den organischen Zusammenhang der Pyrenoide mit den Zellkernen bei Algen nachweisen können[1]), und folgerte daraus auf die Abstammung der Chlorophyllkörner vom Kerne[2]). Es gelang mir, in Epidermen von *Berberis*-Blättern festzustellen, daß »Plastiden«, die an der Peripherie des Kernes lagen und organisch durch einen Kernfortsatz mit demselben verbunden waren, an ihrer Peripherie ergrünten. Schiller[3]) läßt die Plastiden ebenfalls aus dem Kerne unmittelbar aus Nucleolarsubstanz hervorgehen. Diese trete in das Plasma über und bilde nach entsprechender Wandlung und Zerfall in kleinste Partikel, die Plastiden. Daß die Plastiden, Chromatophoren, Leucoplasten usw. ihren Ursprung dem Nucleolus, und zwar seinem acidophilen Teile verdanken, nehme auch ich an. Jedoch bin ich über den Gang der Chloroplastenentwicklung im speziellen zu etwas anderer Anschauung gelangt. In dem assimilierenden Gewebe der Nucellaranlagen von *Fritillaria*, *Tulipa* usw., findet man häufig Zellkerne, die von zahlreichen größeren, aber auch kleineren Chlorophyllkörnern mehr oder weniger dicht umlagert sind. Es entstand für mich die Frage, ist dies Phänomen mehr auf eine Art »Systrophe« aus irgendwelchem Grunde zurückzuführen, oder walten hier engere Beziehungen zwischen Kern und Farbstoffträgern vor? Schnitte von 3—4 cm Dicke mit Ehrlich-Biondi gefärbt, ließen folgendes erkennen: In geringer Entfernung vom Kerne lagern acidophil sich verhaltende Körnchen, welche mit ebenso tingiertem »Stiele« organisch mit dem Kern verbunden waren. Die »Stiele« entsprechen den schon früher beschriebenen Brücken (Fig. 12). Reaktionen mit Jodjodkalium ergaben für die Brücken und Körperchen Eiweißsubstanz. Bald lösen sich die Körnchen mit dem Reste oxychromatischen Nährstoffs vom Kerne los und sind dann unter

---

[1]) Beziehungen zwischen Zellkern und Pyrenoiden bei den Chlorophyceen. (Vorl. Mitt. a. Ber. d. Deutsch. bot. Ges. XXVII. Hft. 3. 1909.)

[2]) Zur Frage eines Macronucleus der Pflanzenzelle. (Arch. f. Zellf. IV. 2/3. S. 254—64. 1910.)

[3]) Über die Entstehung der Plastiden aus dem Zellkern. (Sep. Abdr. Österr. bot. Zeitschrift Nr. 3. 1909.)

derselben Reaktion im Plasma anzutreffen. Lebend haben sie in dieser Phase schon längst die grüne Farbe. Der Stärkegehalt nimmt mit der Abnahme der Eiweiß-Nucleinreserve zu (Fig. 12 *a*—*g*). Erwachsene Stärkekörner hatten noch eine schwache Kontur, die Eiweißreaktion zeigte (Fig. 9, 12 f.). Die Erzeugung der Chlorophyllkorngrundlagen geht gewöhnlich nach allen Richtungen vom Kerne aus vor sich (Fig. 12 *a*, *b*). Vor allem wird hierbei sehr viel Oxychromatin verbraucht, so daß die Kerne, da auch basisch sich verhaltende Substanz abgegeben wird, nur sehr schwache Tinktion aufweisen, und sehr bald Zeichen des Verfalls sich einstellen (Fig. 13). Bei der Entwicklung strömt das Oxychromatin mit basichromatischen Bestandteilchen auf einen Teil des Plasmanetzwerks über, weshalb man bei starker Vergrößerung eine gewisse gitterartige Struktur des Chlorophyllkorns erkennen kann. Auch Schmitz[1]) hatte ja schon an allmählich eintrocknenden Chlorophyllkörnern diese Plasmastruktur erkannt. Stauffacher[2]) ist völlig unabhängig von mir zu ganz denselben Auffassungen gelangt. Bei der dichten Umlagerung des Kernes seitens der Chlorophyllkörner betont der Autor, daß dem jedesmaligen abgerundeten Chlorophyllkorne eine ebensolche Einbuchtung im Kerne entspricht, die jenes genau faßt. Da dies Phänomen an Schnitten von 2—4 μ Dicke beobachtet wurde, konnte von einer Projektion der Körner auf dem Nucleus nicht die Rede sein. Auch die Rückbildung der Kerne mit fortschreitender Entwicklung der Chlorophyllkörner fiel dem Autor auf. Dies konnte sogar bis zum völligen Verschwinden des Kernes führen. Das Korn mit seiner Verbindung (Brücke) mit dem Kern vergleicht Stauffacher treffend mit einer aus dem Röhrchen getriebenen Seifenblase. Die Teilung der Chlorophyllkörner im Plasma anlangend, erwähnt der Autor einen intensiv rot (acidophil) sich färbenden Punkt bei ausgewachsenen Chlorophyllkörnern. Er teile sich, aber diese Teilung gehe der des Chlorophyllkorns voraus. Zu dieser Frage konnte ich wie Stauffacher nähere morphologische Details noch nicht beifügen. Ihm schien dieses Organ ein gewisses Längenwachstum zu zeigen. Mir erschien es in Spindelform und zeigte Eiweißreaktion.

h) Chondriosomen. Die Entwicklung der Chondriosomen in der pflanzlichen Zelle und ihre Beziehungen zu den Chloroplasten bzw. den Leucoplasten in der Wurzel von *Pisum sativum* suchte Levitzky[3]) nach-

[1]) Die Chromatophoren der Algen. Verh. d. natur. Ver. d. preuß. Rheinlande 1883.

[2]) »Über Chlorophyllkörner und Erythrocyten.« Sep.-Abdr. a. Verh. d. Schweiz. naturf. Ges. 93. Jahresvers. Basel 1910. Bd. I.

[3]) »Über die Chondriosomen in pflanzlichen Zellen«. (Sonderabdr. a. d. Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1910. Bd. XXVIII. Hft. 10.)

zuweisen. Der Autor sieht in den Chondriosomen daselbst a priori organisierte Bestandteile des Zellplasmas, welche die Grundlagen für Chloroplasten und Leucoplasten abgäben. Aus der Fülle der Formenvariationen, in denen diese Gebilde im Plasma auftreten, schließt er auf weitgehende vorbereitende Wandlungen derselben. Zunächst läßt sich gegen diese Auffassung einwenden, daß, für die Pflanzen wenigstens, die Chondriosomen als organisierte Gebilde noch keineswegs einwandfrei nachgewiesen sind. Levitsky behauptet zwar, daß »zurzeit an den günstigeren Objekten ebenfalls in vivo« die fadenförmigen Gebilde zu sehen seien, welche den bei denselben Pflanzenteilen beobachteten Chondriokonten vollkommen entsprächen. An lebenden Objekten gelang es mir bis jetzt noch nicht dies nachzuweisen. Ich sah im Plasma wohl hier und da stärker lichtbrechende fadenartige Partien, die ich aber eher für Plasmabestandteile halten möchte, die mit Oxychromatin imprägniert waren. Auch waren diese Partien fast immer in der Form gleich. Nun färben sich aber bei dem Autor Gebilde der verschiedensten Form bei Anwendung von Eisenhämatoxylin und dies deutet wiederum darauf hin, daß hier Körper vielleicht von ganz heterogenen physiologischen Funktionen für Chondriosomen angesehen wurden.

Die von dem Autor beschriebenen Formen variieren derartig, daß man zu der Ansicht gelangt, es seien hier Leucoplasten, strangartige Plasmabestandteile, Stärkekörner usw. überfärbt worden. Daher vielleicht auch die Annahme von den weitgehenden Wandlungen der Chondriosomen. A. Meyer[1]) bemerkt hierzu sehr richtig, daß es für »kein protoplasmatisches und alloplasmatisches Gebilde eine spezielle Färbung gibt.« Seinerzeit hatte ich allerdings in Tapetenzellen von *Iris germanica*, *Lilium Martagon*[2]) und auch in Wurzelspitzen von *Vicia faba* »Chondriosomen« beobachten können, muß aber hinzufügen, daß quellende Fixiermittel benutzt waren und mit dem alles gleich tingierenden Eisenhämatoxylin gefärbt wurde. Daher bin ich geneigt, die pflanzlichen Chondriosomen bis auf weiteres für Artefacte zu halten. Mit Oxychromatin imbibierte Wabenwände des Plasmas zeigen oft feinere und derbere Strukturen und es ist daher nicht ausgeschlossen, daß bei entsprechender Fixierung und genügender Überfärbung, z. B. ergastoplasmatische Bildungen in Embryosäcken recht gut »Chondriosomen« vortäuschen könnten.

[1]) Bemerkungen zu G. Levitzky, »Über die Chondriosomen in pflanzl. Zellen«. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. XXIX. Hft. 3. 1911.)

[2]) Wanderung nucleolarer Substanz während der Karyokinese usw. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. Bd. XXII. Hft. 8. 1904.)

III. Ergebnisse.

Es galt in diesen Ausführungen zunächst die von STAUFFACHER an tierischen und pflanzlichen Zellen gewonnenen Resultate weiterhin an Pflanzenzellen zu prüfen. Es gelang mir von neuem zu bestätigen, daß das »Oxychromatin« des Kernes, identisch mit Linin, Plastin, die intranuclearen Bahnen des Kernes füllt und vermittels bestimmter Verbindungsstücke zwischen Kern und Plasma auf das letztere übertritt. Die Verbindungsstücke, »Brücken« genannt, vermitteln also einen ganz unmittelbaren Stoffwechsel zwischen Cytoplasma und Kern. Dieses Oxychromatin entstammt der acidophilen Grundlage des Nucleolus; denn kontinuierliche Bahnen weisen dies bis in die Maschen des Plasmas nach. Auf diesen Transportwegen gelangt auch die basophile Substanz auf Kerngerüst und Plasmawabenwände. Infolgedessen ruhen überall da, wo basichromatische Körnchen im Plasma angetroffen werden, diese auf oxychromer Grundlage. Eine Kernmembran konnte weder in vivo noch in gut fixierten Präparaten angetroffen werden. Die Entwicklung der Spindel bedarf keiner besonderen Grundlage bzw. Substanz, aus welcher sie sich herausdifferenziert. Sie entsteht aus dem mit Oxychromatin durchtränkten Wabenwerk des Kernes und des Plasmas in dem Raume zwischen beiden Polen. Der basichromatische Anteil an der Spindel ist relativ unbedeutend.

Die Beförderung der Chromosomen nach den Polen geht infolge der fortschreitenden Kontraktion des oxychromatischen Spindelkomplexes vor sich, wobei im Verlaufe der Metaphase, Anaphase oxychromatische Komplexe mit basichromen Körnchen in das Cytoplasma ausgeschieden werden (vielleicht Attraktionscentren, Microcentren). Nicht unmöglich dürfte die Annahme sein, in diesen Anlagen die Neubildung von Nucleolen der Tochterkerne zu sehen. In Embryosackanlagen findet während deren Entwicklung analog wie im Tierreiche ein starker Verbrauch oxychromatischer Kernsubstanz der benachbarten somatischen Zellen statt. Mit Ausbildung der Anlagen ist auch der Gehalt an Oxychromatin aufs äußerste reduziert. Unregelmäßigkeiten in der Entwicklung des Eiapparats gewöhnlich steriler Pflanzen ließen sich in den hier untersuchten Fällen auf mangelhafte Plasmaernährung zurückführen. Durch Abströmen der Nährstoffe nach den vegetativen Teilen der Pflanze hin, trat durch Rücktritt des Oxychromatins eine Entmischung des Plasmas ein. Dieselbe macht sich zuerst in den jungen Eianlagen bemerkbar. Die Folge war frühe Degeneration der Embryosackmutterzelle. Dieselbe Plasmaent-

mischung scheint die Anormalitäten bei der Pollenbildung und Embryosackentwicklung steriler Bastardpflanzen zu bedingen.

Der Gehalt an Oxychromatin ist in normalen fertigen Eianlagen sehr gering, das Wachstum daselbst gelangt zu einem vorübergehenden Stillstand. Das zum wiedereinsetzenden Wachstum nötige Oxychromatin bringen die generativen Kerne des Pollenschlauchs mit, die, im Gegensatz zum vegetativen Kern überreich mit diesem Kernstoff ausgestattet sind. Als Vererbungsträger scheint demnach dem Oxychromatin eine größere Bedeutung zuzukommen als dem Basichromatin. Die Chlorophyllkörner sind keine individualisierten, im Plasma aus ihresgleichen hervorgehenden Gebilde. Sie entstehen vielmehr aus dem Oxychromatin des Kernes, welches auch die Grundlage der Leucoplasten darstellt. Sie gelangen in das Plasma, teilen sich daselbst weiter. Ob der Teilungsapparat der Chlorophyllkörner mit einem Spindelapparat im kleinen verglichen werden kann, steht dahin. Jedenfalls gehen Veränderungen desselben der Teilung des Chlorophyllkorns voraus. Die Chondriosomen sind, für die Pflanzen wenigstens, immer noch sehr fragwürdige Gebilde, deren Existenz als organisierte Bestandteile des Zelleibs noch keineswegs nachgewiesen ist. Als Grundlagen für Chloroplasten oder Leucoplasten jedoch sind sie nicht anzusehen, und ich persönlich halte sie für Kunstprodukte.

Auerbach (Hessen), im Juni 1911.

Erklärung der Abbildungen.

Tafel XXXI—XXXIII.

Fig. 1. Spaltöffnungszelle von *Iris florentina*, intra vitam. Vergr. 562. Kernbrücken, die an die Plasmawaben ansetzen. Kernmembran nicht vorhanden.

Fig. 2. Kern einer Epidermiszelle von *Iris florentina*, intra vitam. Vergr. etwa 1000. Der Nucleolus ist von einem Hof umgeben, der von Brücken durchquert wird.

Fig. 3. Kern einer Tapetenzelle von *Fritillaria imperialis*. Vergr. 1000. Die Brücken verlaufen schief. Am Endpunkt der Brücke ein basophiles Körnchen.

Fig. 4. Epidermiszelle von *Berberis vulgaris*, intra vitam. Färbung mit 2% Neutralrotlösung. Vergr. 1500. Im Plasma ergrünende Chlorophyllkörner in Verbindung mit dem Kern.

Fig. 5—6. Nucelluszellkerne von *Tulipa Gesneriana*. Vergr. 1000. Die Brücken mit dem basophilen Endkörnchen. Abströmen des Oxychromatins auf die Plasmawaben. Auf den Kreuzungspunkten der Waben einige basophile Körnchen.

Fig. 7. Integumentkern von *Fritillaria imperialis*. An einigen Brücken das Überfließen des Oxychromatins in das Plasma sichtbar. Vergr. 500.

Fig. 8. Wandbelegkerne von *Fritillaria imperialis*. Brücken in verschiedenen Ebenen liegend. Vergr. 1000.

Fig. 9 u. 10. Beginn der Spindelbildung in Wandbelegkernen von *Fritillaria imperialis*. Starker Austritt von Oxychromatin an dem Pole. Fig. 10. Multipolare Anlage im Beginn. Vergr. 1000.

Fig. 11. Spindelanlagen an den Polen nunmehr bipolar, an dem oberen noch zurückgebliebenen Pole die rädchenähnliche Anlage. Wandbelegkern von *Fritillaria imperialis*. Vergr. 1500.

Fig. 12. Entwicklung der Chlorophyllkörner aus dem Kerne im assimilierenden Gewebe einer Anthere von *Fritillaria imperialis*. Vergr. 1000. a, Austritt des Oxychrommatins, an der Spitze der Brücke eine oxychromatische Verdickung; *b* u. *c*, dieselbe weiter vorgeschritten; *d*, Chlorophyllkorn mit Beginn der Stärkeentwicklung frei im Plasma liegend; *e*, dasselbe weiter entwickelt; *f*—*g*, Stärkekörner mit dem Rest der Eiweiß anzeigenden Hülle.

Fig. 13. Zerfallender Kern infolge starker Abgabe von Oxychromatin und Basichromatin bei der Chlorophyllentwicklung. *Fritillaria imperialis*. Vergr. 1000.

Fig. 13—23. Mikrophotographien aus dem Wandbelege von *Fritillaria imperialis*, davon Fig. 15—23 in zwei verschiedenen optischen Ebenen aufgenommen.

Fig. 13. Aktivierte Kerne, membranlos. Spiremstadium.

Fig. 14. Anaphasen, Plasma gut mit Oxychromatin ernährt.

Fig. 15. Wandbelegkerne, die Höfe und Brücken zeigend.

Fig. 16. Aktivierte Kerne in Vorbereitung der Spindel. Austritt von Oxychromatin und Basichromatin mittels der Brücken in das Plasma.

Fig. 17—19. Weitere Entwicklungsstadien. Das Oxychromatin verbreitet sich besonders an den Polen in die Waben des Plasmas mittels der Brücken.

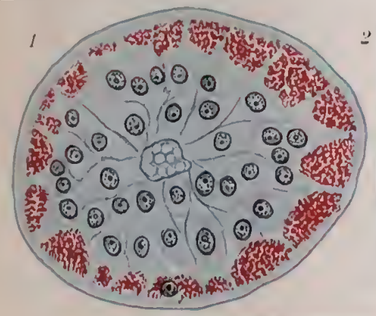
Fig. 18. Allseitiger Austritt von Oxychromatin (multipolar).

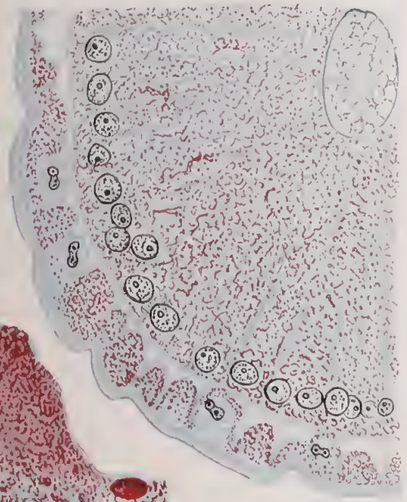
Fig. 19. Die intranuclearen oxychromatischen Bahnen folgen der Richtung des abströmenden Oxychromatins. Die Bahnen des entgegengesetzten Poles noch unverändert.

Fig. 20. Kernplattenstadium. Die Chromosomen zeigen Höfe. Brücken verbinden sie mit den Plasmawaben. Die Brücken scheinen immer da anzusetzen, wo die verbundenen Chromatinkörner liegen. An den Polen sammeln sich sehr bedeutende Mengen Oxy- und Basichromatin an.

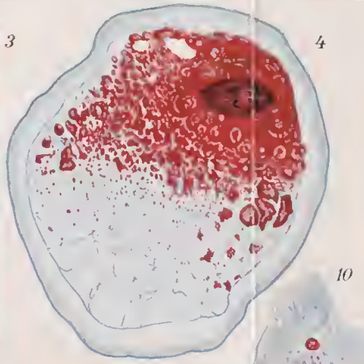
Fig. 21 u. 22. Anaphasen. An den Polen sammeln sich mit Rückbildung der Spindel mehr und mehr oxychromatische Komplexe an. (Grundlagen der neuen Nucleolen?)

Fig. 23. Vorgeschrittenere Anaphase. Die polaren Ansammlungen haben sich mehr voneinander isoliert. Die Konturen treten etwas schärfer hervor.

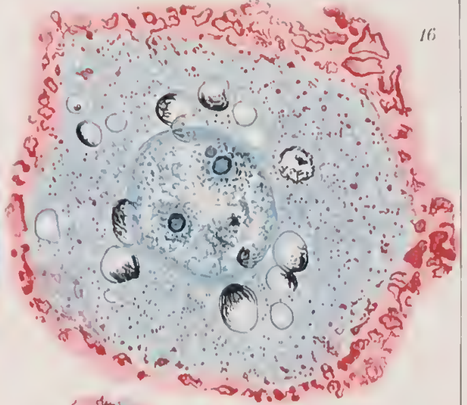

1

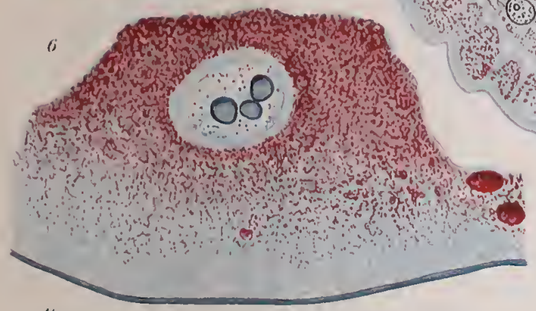

2

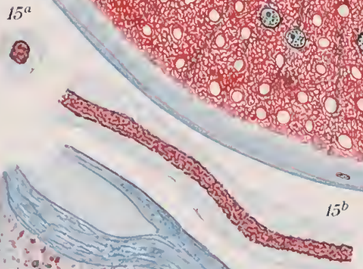
3


4

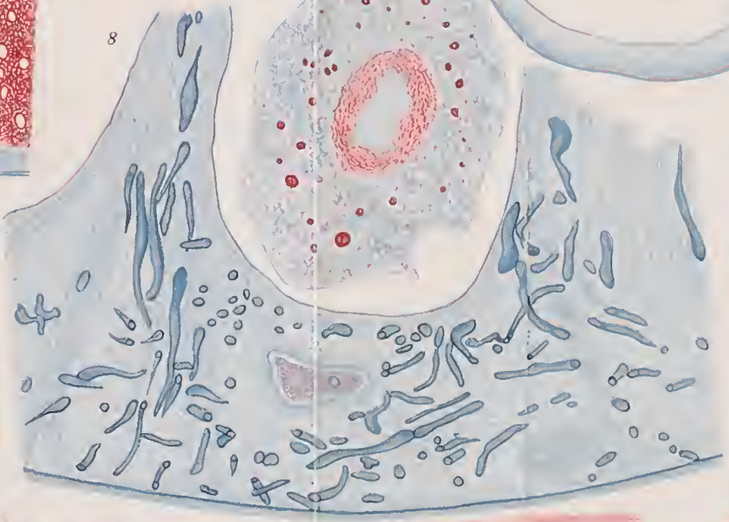
5

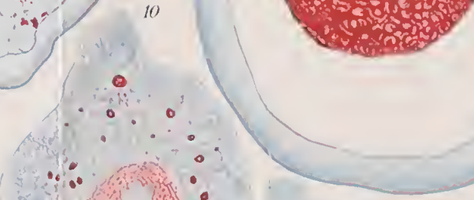

16

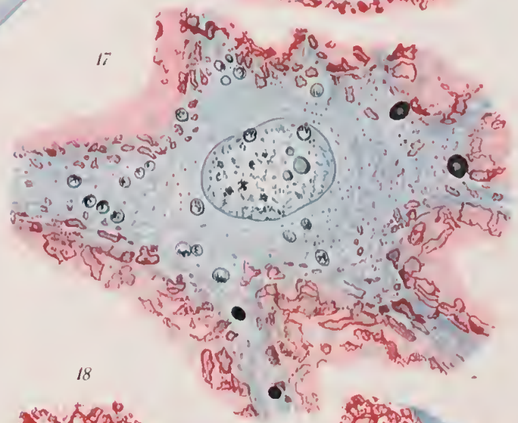

6


15a

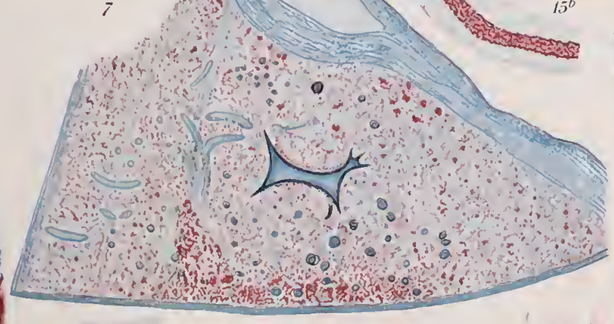
15b

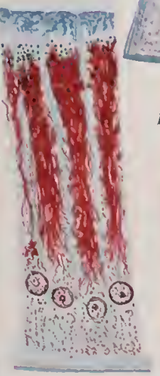

8


10

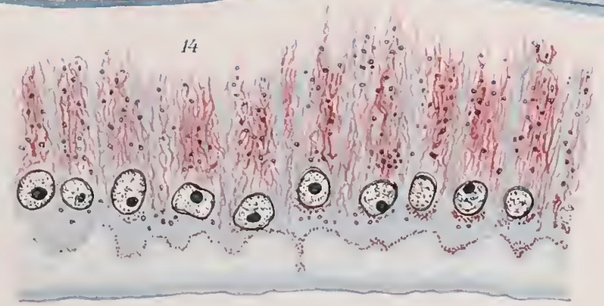

17

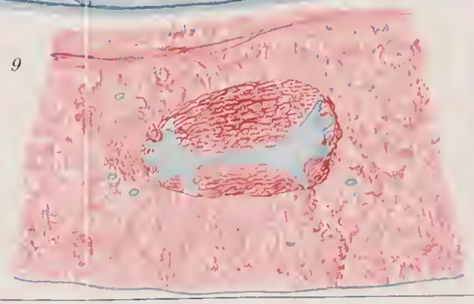
11

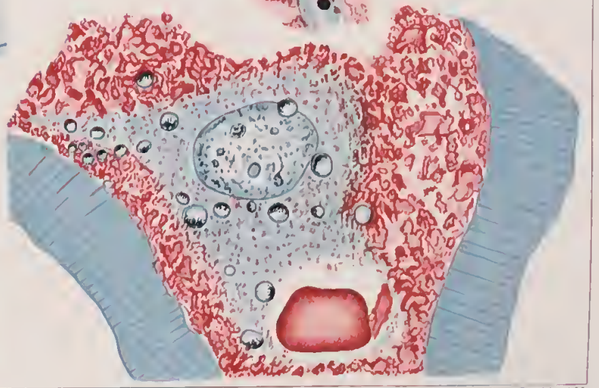

7


12

13


14


9


18

V. Kemnitz gez. Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig. Werner u. Winter, Frankfurt a. M.

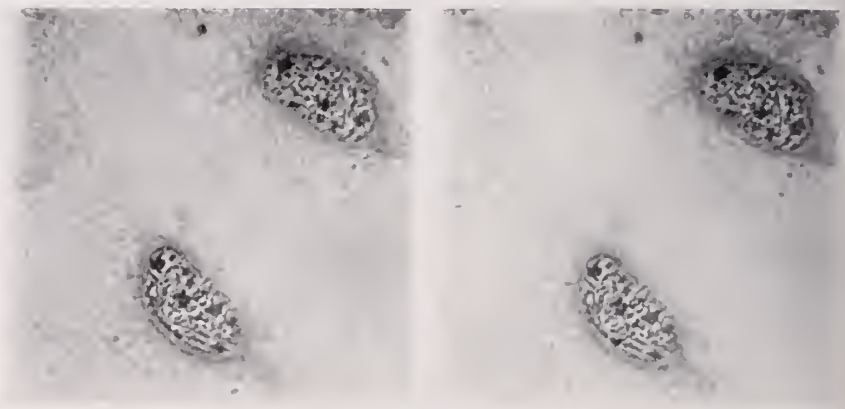


Fig. 16

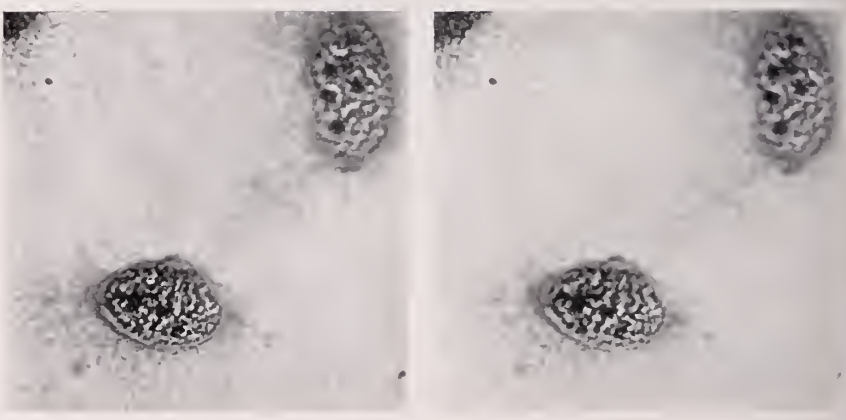


Fig. 17

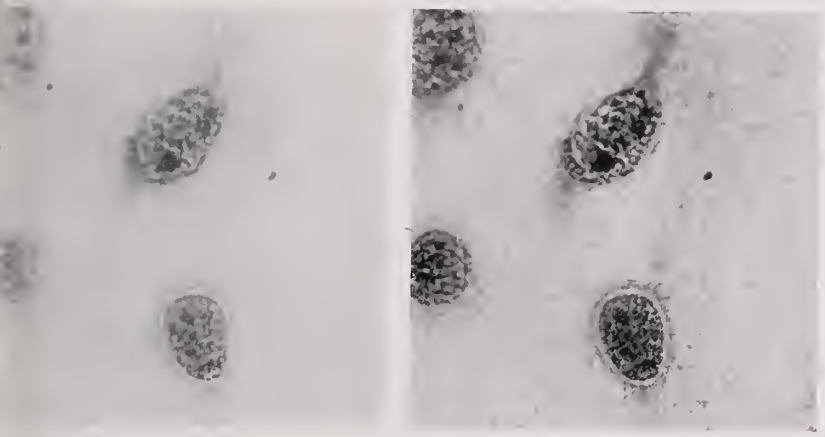


Fig. 18

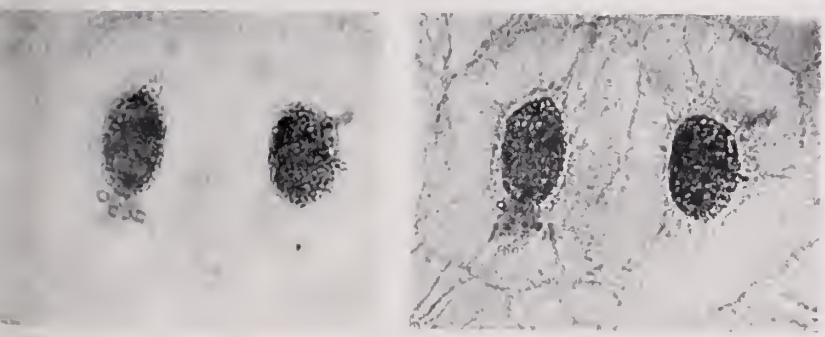


Fig. 19

Fig. 20

Fig. 21

Fig. 22

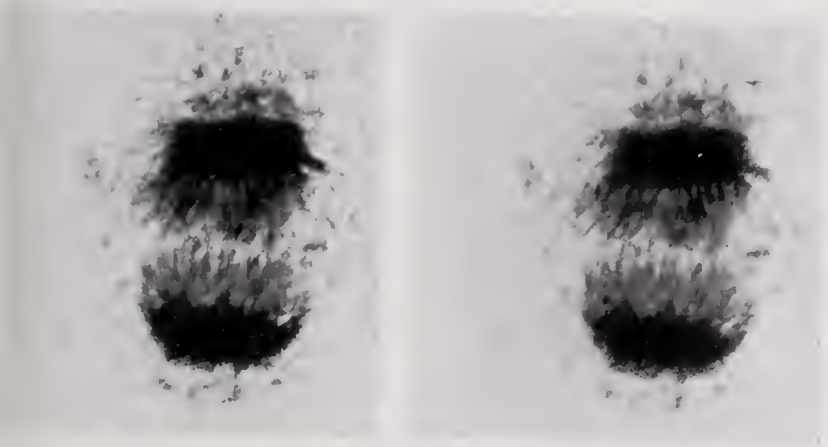


Fig. 23

Referate.

Schaxel, Jul. Die Eibildung der Meduse *Pelagia noctiluca* Pér. et Less. Untersuchungen über die morphologischen Beziehungen der Kernsubstanzen untereinander und zum Cytoplama. In: Festschrift für R. Hertwig. Bd. I. S. 169—212. 4 Tafeln. 1910.

Die Geschichte der Ovocyten beginnt mit der Bildung eines Bukettstadiums, bei dem am gemeinsamen Aufhängepunkt der Chromosomenschleifen sich stets ein Nucleolus findet. Ein Chromatinaustritt an dieser Stelle war nicht zu beobachten. Nach der Auflösung dieser Orientierung ballen sich die Chromosomen im Centrum des Kernes immer mehr zusammen, so daß man schließlich von einigen richtigen Centralnucleolen sprechen kann (im Gegensatz zu dem daneben persistierenden exzentrischen). Nun erst setzt eine Abgabe von Chromatin an das Eiplasma (»Emissionsstadium«) ein. Es treten nämlich Bahnen auf, die radiär von den centralen Nucleolen zur Kernmembran ziehen, wo ihre chromatischen Granulationen zu einem Klumpen an der Innenseite gestaut werden, durchtreten und außen auch noch nucleolenähnlich anliegen (»Centrifugie des Karyochromatins«). Mit dieser Emission setzt das Wachstum des Eies ein.

Nachdem die Abgabe beendet ist, schwinden die Bahnen, das Chromatin der Centralnucleolen zerstreut sich wieder im Kern, wo es sich später an einzelnen Stellen zu den definitiven Tetraden kondensiert. Das Schicksal des Chromatins im Plasma ist ein dreifaches: An der Oberfläche des Eies veranlaßt es die Bildung einer Dotterhaut; ein großer Teil liefert Dotterschollen aus Fusionen von »Dotterspuren«, die »unter Sonderung von Bildungsherden und Zufuhrkanälen und proportionaler Erschöpfung von Chromatin« entstehen; der Rest bleibt als intervitellines Chromatin in Form von Mitochondrien im Reifei erhalten.

Schaxel fügt diesen Tatsachen viel Theoretisches an über die Wechselbeziehungen zwischen Kern und Plasma und seine »Kinetochromidien«, das sich aber im allgemeinen in den bekannten Vorstellungen seiner Lehrer bewegt. Beachtenswert erscheinen mir seine Bemerkungen über die »organbildenden Substanzen« als mit Chromidien beschicktem Cytoplasma; nur glaube ich, daß diese Definition der organbildenden Substanzen noch zu eng ist, und einmal einer weiteren Umwandlung des Chromidiums in specifische Dottersubstanzen, Pigmente usw. Raum gegeben werden muß und ferner für diese nicht nur die vom Eikern stammenden Materialien in Anspruch genommen werden dürfen, sondern auch in weitestem Maße die von Nährzellen irgendwelcher Art

gelieferten Stoffe. Daß aber trotz einer solchen Auffassung eine auf die Mitochondrien begründete Vererbungshypothese im Sinne von Meves nicht zu halten ist, sieht Schaxel ein[1]).

P. Buchner (München.)

Schaxel, Julius. Das Zusammenwirken der Zellbestandteile bei der Eireifung, Furchung und ersten Organbildung der Echinodermen. In: Arch. mikr. Anat. Bd. LXXV. S. 543—606. 5 Taf. 1910.

»Die aus den Chromosomen der letzten Vermehrungsteilung hervorgegangenen Chromatinfäden des Kernes der jungen Ovocyte kondensieren sich nach einigem Verharren in dem fädigen Zustand in Nucleolen, die sich zu einem einzigen persistierenden vereinigen. Der Nucleolus ist Assimilations- und Emissionscentrum des Chromatins. Die diffuse Chromatinemission erfolgt durch die Kernmembran ohne Kuppenbildung. Das im Kern verbleibende Chromatin strömt vom Nucleolus ab, der als achromatischer Körper deformierender Vacuolisation verfällt.« Die Chromosomen sollen sich erst allmählich aus dem übrig gebliebenen nicht ins Plasma ausgetretenen Chromatin rekonstruieren. Das stimmt mit meinen Befunden am *Asterias*-Ovar schlecht überein, wo ich inzwischen zu jeder Zeit in der Ovocyte vom Kernplasma scharf abgegrenzte typische Tetraden fand (Bd. VI des Archivs). (Schaxel bildet nirgends in der wachsenden Ovocyte eine solche typische Tetrade ab.) »Im Zelleib wird unter Anteilnahme des Chromatins das Furchungsplasma konstituiert, wobei es entweder bei der Formierung chromatischer Kondensa bleibt (*Strongylocentrotus*-Typus) oder zu deutoplasmatischen Ablagerungen kommt, zwischen die dann die Chromatinkondensa eingelagert sind (Echinastertypus).

Während der Furchung wächst natürlich das Kernchromatin wieder an, eine Emission findet aber nicht statt. Das Chromatin des Furchungsplasmas wird allmählich erschöpft; achromatisch wird hierbei zuerst das prospektive primäre Mesenchym und Entoderm. Erst nach dem Blastulastadium kommt es zu einer erneuten Chromatinemission, von dem die organbildenden Leistungen ihren Ausgang nehmen. So entsteht die Skeletsubstanz im Cytoplasma, die dann extracellulär die Strahlen bildet, unter Erschöpfung des Chromatins im Plasma.

Die methodologischen Fragen, die Schaxel, wie in seiner *Pelagia*-Arbeit, eingehend abhandelt und auf die er viel Wert legt, eignen sich wenig hier referiert zu werden. Soweit Schaxel hierbei daran erinnert, daß eine eigentliche vergleichend morphologische Behandlung der Zelle im Sinne einer Morphologie der Zellkomplexe (Organe) nur auf begrenzten Gebieten betrieben werden kann (Skelet- und Bewegungsapparate der Spermien, Protozoenorganellen usw.), daß aber sonst an Stelle einer »Morphe« in der Zelle richtiger von Substanzen und Substanzveränderungen gesprochen werden muß, sagt er nichts Neues, denn daß nur eine immer innigere Verquickung von Morphologie und Chemie der Zellbestandteile zu einer wirklich exakten Cytologie führen kann,

[1]) Der Verf. führt in die cytologische Untersuchungsweise eine Neuerung ein, von der nur zu hoffen ist, daß sie sich nicht einbürgert. Er gibt seinen Abbildungen aus ästhetischen und Deutlichkeitsgründen verschiedene Farben, die in keiner Weise denen der Präparate entsprechen. Ein solches Vorgehen, zumal wo es sich um Fragen, wie die Chromatineigenschaften der Mitochondrien, ihre Beziehungen zur Dotterbildung usw. handelt, ist im höchsten Grade irreführend.

weiß jeder auf diesem Gebiet Arbeitende. Die Methoden der vergleichenden Anatomie werden aber dabei doch stets unentbehrliche und erfolgreiche Hilfsmittel zur Erkenntnis bleiben (Mitose der Protozoen und Metazoen, die Komponenten der Spermatiden, Keimbahnbestimmung und viele ähnliche Gebiete).

P. Buchner (München).

Retzius, G. Über den Bau des Eies der Echinodermen im unbefruchteten und im befruchteten Zustand. In: Biologische Untersuchungen von G. Retzius. Neue Folge. Bd. XV. Nr. 1. 1910.

Bei der Entwicklung des Eies von *Parechinus miliaris* findet Retzius eine ausgesprochene Filarstruktur des Plasmas, die, mit Körnchen besetzt, das Mitom darstellt und ein homogenes »Paramitom« umschließt. Das Mitom soll kein Netz, sondern ein Geflecht sein. Im Paramitom entstehen die ersten Dotterkörnchen, zunächst nur in der Nähe des Kernes, umsponnen von Mitomfäden. Die Einzelbezirke fließen zu einer den Kern rund umgebenden Zone zusammen, die sich allmählich peripherwärts vergrößert, bis sie das ganze Ei erfüllt und nur eine ganz schmale Randzone frei läßt.

Im reifen Ei stellt die Dottermasse gewundene Balken und Stränge dar, die umsponnen vom Mitom, durch Paramitomräume (die durch die Fixation mehr oder weniger betont werden?) jedoch deutlich voneinander geschieden. Diese Auffassung steht natürlich in direktem Widerspruch mit der über die Struktur des Echinideneies wohl allgemein herrschenden (Wilson).

Dadurch, daß die Mitomfäden sich von den Balken lösen und unter dem Einfluß des Centralkörpers kontrahieren, entsteht die demnach rein fibrilläre Spermastrahlung.

Über die Dottermembran gelangt Retzius zu keinen befriedigenden Einblicken, die Theorien Loebs und andrer hält er für unzureichend.

Eine Analyse des cytologischen Todes der Eier lehrt, daß dieser morphologisch in einer allmählichen Trennung der fibrillären und deutoplasmatischen Substanzen besteht, die sich zu größeren und kleineren Tropfen sammeln, ohne dabei ihre eigentliche Struktur zu verlieren.

Die parthenogenetischen Versuche führen zu keiner wesentlichen Erweiterung unsrer Kenntnisse auf diesem Gebiet. Die Strahlung und die radiäre Dotterbalkenanordnung entsteht auch hier in der erwähnten Weise. Wenn Retzius die große Variabilität der Erscheinungen bei der künstlichen Entwicklungserregung betont, so spricht er damit eine allgemeine Erfahrung aus. — Die vergleichende Untersuchung weiterer Echiniden und Asteriden, bei denen gelegentlich die Balken weniger deutlich waren (besser fixiert?) erlaubt ihm, seine Ansichten über die Plasmastruktur zu verallgemeinern. Auch für Cölenteraten (*Aurelia*, *Cyanea*) entschließt sich Retzius für die Filarstruktur, entgegen Schaxel (1910), der einen wabigen Bau angibt (*Pelagia*). Auch die Dotterbildung läuft bei seinen Objekten nicht so ab, wie Schaxel will. Wie bei *Parechinus* entsteht der Dotter zunächst nur in einer Zone um den Kern, so daß die Querschnitte diesen mit einem Ring umgeben und das übrige Plasma frei zeigen. Ich kann für *Pelagia* aus eigener Anschauung einen solchen sehr distinkten kompakten Ring um den Kern bestätigen, der aber nicht, wie Retzius dies schildert, aus definitiver deutoplasmatischer Substanz besteht, sondern nur an deren Bildung hochgradigen Anteil nimmt, um auf späten Stadien zu verschwinden. Schaxel, dem diese Verhältnisse völlig entgingen, beschreibt eine einheitliche diffuse Dotterbildung im ganzen Plasma.

Eier von Turbellarien (*Prosthecceraeus*) und Nemertinen (*Malacobdella*), von Mollusken (*Pecten* und *Modiola*), sowie von Kaninchen sollen den gleichen Bau besitzen.

P. Buchner (München).

Müller, Rob. Über die Eireifung bei den Alcyonaceen. In: Arch. Ges. Phys. Bd. CXXXVI. S. 141—161. 4 Textfig. 1910.

Die Dotterbildung der Alcyonaceen geschieht auf Kosten eines Follikels, ohne Beteiligung des Kernes. Die Dottersubstanzen treten in gelöstem Zustand in das Ei ein und werden in Schollenform abgeschieden, wenn die Löslichkeitsgrenze derselben überschritten wird. Außerdem nimmt das Ei regelmäßig eine Nährzelle auf, die allmählich resorbiert wird. Über die Reifung macht Müller recht sonderbare Angaben: »Ein Analogon zur Bildung der Polkörperchen besteht nicht, die Eireifung findet ohne Reifeteilungen, ohne Reduktionsteilungen statt.« »Die mit der Eireifung verbundene Chromatinreduktion vollzieht sich unter Umwandlung von Idiochromatin in Trophochromatin durch Chromidien, welche in den Eikörper auswandern, der reduzierte Kernanteil wird völlig in Nucleolarsubstanz verwandelt. Dieser Anteil entspricht dem weiblichen Pronucleus.«

P. Buchner (München).

Senna, Ang. Ricerche sull' oogenesi di *Tomopteris elegans* Chun. In: Arch. Anat. et Embryolog. Vol. IX. Fasc. 3. p. 299—348. 2 tav. Firenze 1910.

Doxs (Arch. f. Zellf., Bd. II) hatte als Grund für die Differenzierung der Ovocyte von den abortiven Ovocyten im Keimlager von *Tomopteris* topographische Beziehungen angegeben, die eine schlechtere Ernährung der letzteren im Gefolge haben sollten. Senna bestreitet dies, da die günstigen Ernährungsbedingungen (unmittelbarer Kontakt der Körperflüssigkeit) beiden Zellsorten in gleichem Maße zukämen. Er glaubt, daß es sich hierbei um innere differenzierende Faktoren handelt, wofür spricht, daß unmittelbar nach Bildung einer 8-Zellengruppe aus einer Ovogoniengruppe, eine Ovocyte sich durch einen größeren Kern auszeichnet, der die Zelle zum definitiven Ei bestimmt. Das Wachstum der abortiven Zellen ist aber zunächst, offenbar im Zusammenhang mit ihrer erhöhten Aktivität, ein bedeutenderes. Immerhin machen beide Zellsorten die Vorgänge der Tetradenbildung in völlig gleicher Weise und synchron durch. Hierbei werden die zehn Chromosomen zu fünf Tetraden zusammengefügt, jedoch im Gegensatz zu Schreiners, die bekanntlich für das Objekt eine Längskonjugation eingehend beschrieben haben, durch Konjugation end to end.

Das wachsende Ei ist anfangs mit dichten basophilen Granulationen erfüllt, die bis zur Bildung des deutoplasmatischen Materials sich mehren, um dann abzunehmen und völlig zu schwinden, und die Senna als Mitochondrien bezeichnen möchte. Das Keimbläschen enthält währenddem die persistierenden Tetraden und einen großen Nucleolus, der eine Anzahl kleiner sekundärer Nucleolen abzugeben scheint.

Die abortiven Zellen halten mit dem Wachstum der Eizelle nicht Schritt. Es kommt zu keiner Speicherung von Deutoplasma in ihnen, doch hält Senna wenigstens für die Zeit, in der sie noch wachsen, ihre alimentäre Bedeutung im Gegensatz zu Doxs aufrecht. Die Zellgrenze zwischen Ei und Nährzellen ist nie unterbrochen, Nährströme oder ähnliche Differenzierungen fehlen ganz. Endlich sitzen sie dem Ei als degenerierendes Anhängsel auf.

P. Buchner (München).

Morrill, Charles V. The Chromosomes in the Oögenesis, Fertilization and Cleavage of Coreid Hemiptera. In: Biol. Bull. Vol. XIX. p. 79—126. 2 tabl. 1910.

Ich gebe Morrills Resultate, die eine beträchtliche Lücke in der Heterochromosomenkunde ausfüllen, wo wir uns bisher mit Wahrscheinlichkeiten und Vermutungen begnügen mußten, am besten wieder, wenn ich seine eigne Zusammenfassung zugrunde lege. Bei *Archimerus*, *Anasa*, *Protenor* ist ein unpaares Heterochromosom in den Spermatogonien vorhanden, bei *Protenor* an seiner Größe leicht kenntlich. Die Ovogonien enthalten das gleiche um ein zweites Heterochromosom von gleicher Größe vermehrt (Bestätigung der Angaben von Wilson, Montgomery, Lefevre und Mc Gill). Die Tetraden der Ovocyte zeigen den Ovogonienchromosomen entsprechende Differenzen. In beiden Reifeteilungen werden im Ei alle Tetraden geteilt. Ein besonderes, nachschleppendes Chromosom oder ähnliches gibt es hier nicht. Der weibliche Pronucleus enthält demnach die gleichen Chromosomen wie das Spermium, das ein Heterochromosom mitführt. Bei der Befruchtung ist der Chromosomenkomplex beider Pronuclei getrennt zu studieren. Er entspricht bezüglich der Größenverhältnisse völlig dem der Spermato- bzw. Ovocytenteilung. Nucleolen fehlen in den Pronuclei. Die Chromosomen der Blastodermzellen ließen sich leicht zählen. Zwei Sorten von Embryonen konnten gefunden werden, solche mit gerader und mit ungerader Chromosomenzahl, entsprechend den Zahlen in Ovogonien und Spermatogonien, so daß man das Geschlecht durch Zählung eines ganz frühen Furchungsstadiums mit Sicherheit entscheiden kann. Die Idiochromosomen verhalten sich in beiden Geschlechtern bei der vegetativen Zellteilung, bei der Reifeteilung, Befruchtung, Furchung wie die Autosomen. Es fehlen also auch Beziehungen zu Nucleolen. Morrill sieht in alledem die besten morphologischen Stützen für die Wilson-Stevenssche Hypothese, daß das Vorhandensein oder Fehlen gewisser Chromosomen das Geschlecht bestimme, und für die Individualitätslehre.

P. Buchner (München).

Elpatiewsky, W. Die Entwicklungsgeschichte der Genitalprodukte bei *Sagitta*. 1. Die Entwicklung der Eier. In: Biologische Zeitschrift. Bd. I. Hft. 4. S. 333—367. 3 Taf. russisches Resumé. Moskau 1910.

Die neueren Resultate über das Keimplasma der Sagitten von Stevens, Elpatiewsky und mir selbst habe ich in diesem Archiv schon wiederholt referiert. Die Entwicklungsgeschichte des Eies, die nun Elpatiewsky ausführlich schildert, bringt hierzu nicht mehr viel Neues. Ich verweise auf das hierüber schon — besonders Bd. VI, Hft. 2 — Berichtete[1]). Neu und interessant sind Elpatiewskys Beobachtungen über die Entstehung der ersten Reifeteilung. Aus dem Kern bildete sich nach der Auflösung seiner Membran eine Anzahl zunächst völlig isolierter Teilspindeln, die in der Folge zusammenfließen zu unregelmäßig vielpoligen Figuren, wie sie *Ascaris* auf entsprechenden Stadien besitzt, und schließlich einer extrem tonnenförmigen Figur den Ursprung geben, die, wie Stevens und ich sie schon beschrieben, völlig parallele Fasern besitzt. Selbst wenn es sich hier um abnorme Vorgänge handeln sollte, die ähnlichen bei Atresie

[1]) Dort steht (S. 329) infolge eines Druckfehlers, daß meine und Stevens' Mitteilungen über *Sagitta* 1909 erschienen seien. Dies muß 1910 heißen.

des Säugetiereies entsprechen, bleiben die Befunde für die Centriolfrage und »Polyenergie« des Kernes von Bedeutung. Bestätigt wird das völlige Fehlen eines Längsspaltes der pseudoreduzierten Chromosomen und deren ideale Kontinuität. Daß sie dabei ein vorübergehendes Stadium der Achromasie durchmachen (Elpatiewsky), scheint mir nach Stevens und eigner Anschauung wenig wahrscheinlich. Das merkwürdige Netz, das das Keimepithel außen überzieht, findet auch Elpatiewsky, ebenso den Zweizellenapparat, dessen eine Zelle in die Ovocyte einwandert. Die Verbindung jeder solchen Zelle durch einen Strang mit dem Netz, die ich geschildert, kann Elpatiewsky sowenig wie Stevens finden. Daß diese trotzdem existiert, bin ich sicher. Die Kontinuität der eingewanderten degenerierenden Zelle durch die Keimbahn stellt Elpatiewsky mit Stevens in Abrede. Es erscheint aber schwer die Tatsachen anders zu deuten. Es findet sich bei *Sagitta* die ungewöhnliche Tatsache, daß ein komplizierter Apparat im Ei vorhanden ist, bei dem an einer genau determinierten Stelle eine und stets nur eine Zelle einwandert und zu einem stark färbbaren Klumpen degeneriert. Er findet sich im ausgewachsenen Ei, findet sich genau an der gleichen Stelle in gleicher Größe und färberischer Beschaffenheit während der Reifeteilungen, während der Befruchtung und ersten Furchung. Und weiter ist kein Zweifel mehr, daß die Keimbahn der Sagitten durch einen ebenso großen, färberisch gleichen Körper von der ersten Furche an bestimmt wird, der an genau gleicher Stelle liegt. Beide Einrichtungen sollen nichts miteinander zu tun haben! Der erste Körper soll hinausgeworfen werden und an der gleichen Stelle s o f o r t ein neuer, äußerlich gleicher entstehen, der plasmatischer Natur ist. Inzwischen ist meine Auffassung durch die Kühnschen Untersuchungen an Cladoceren in eindeutiger Weise bestätigt worden!

Die chromatische Gitterkugel um die Ovocytenkerne wird im Einklang mit mir und Stevens beschrieben. Bezüglich der Art ihrer Entstehung bestehen Differenzen, die zwingen, die Frage als unentschieden zu bezeichnen. **P. Buchner** (München).

Meves, Fr. Über die Beteiligung der Plastochondrien an der Befruchtung des Eies von *Ascaris megalocephala*. In: Arch. mikr. Anat. Bd. LXXVI. S. 683—713. 3 Taf. 1910.

Schon 1891 haben die Brüder Zoja mittels der Altmannschen Färbung im *Ascaris*-Ei verstreute Granula beobachtet, die sie als Plastidulen bezeichneten und mit den ähnlichen Granulis identifizierten, die sich in Spermien besonders in der Region um den Kern fanden. Sie haben dabei bereits als wichtig betont, daß letztere bei der Befruchtung im Ei ausgesät werden. Nachdem auch von andrer Seite diese Granula des Spermiums wiederholt beschrieben wurden und sie von Tretjakoff und A. Mayer geradezu als Mitochondrien bezeichnet wurden, greift Meves diesen deutlichen Fall einer Beteiligung der Mitochondrien bei der Befruchtung aufs neue auf, ohne viele Details zufügen zu können. Zojas Plastidulen sind natürlich auch Mitochondrien, sie sind mit Boveris Archoplasma identisch. Von den stark lichtbrechenden Einschlüssen des *Ascaris*-Eies abgesehen (den sphères hyalines und gouttelettes homogènes van Benedens) soll es außer den Mitochondrien nur noch ein homogenes Substrat im Ei geben. Etwa mit Abschluß der ersten Reifeteilung verlassen die väterlichen Plastochondrien, die zunächst an die Oberfläche des Spermiums gewandert sind, dieses ganz. Ursprünglich größer als die Plastochondrien des Eies, zerfallen sie hierbei in Granula, die sich nicht mehr von denen des Eies unterscheiden.

»Aus theoretischen Gründen muß angenommen werden, daß, nachdem die männlichen und weiblichen Plastochondrien sich gemischt haben, früher oder später je ein männliches und weibliches Korn miteinander verschmelzen. Es ist nun in der Tat vielfach unverkennbar, daß die Plastochondrien, welche nach Beendigung der ersten Richtungsteilung das Spermium umgeben, im Vergleich mit denjenigen früherer Stadien nicht unerheblich größer sind.«

P. Buchner (München).

Jörgensen, M. Zur Entwicklungsgeschichte des Eierstockeies von *Proteus anguineus* (Grottenolm) [Die Wachstumsperiode]. In: Festschrift für R. Hertwig. Bd. I. S. 439—634. 13 Taf. 1910.

Die Wachstumsperiode der *Proteus*-Ovocyte beginnt mit einer tiefgreifenden chemischen und morphologischen Umwälzung der Zelle. Waren die Ovogonien von einem basisch reagierenden Reticulum erfüllt, dem Nucleolen oft gänzlich fehlten, so ist der Kerninhalt der jungen Ovocyte plötzlich fast homogen (pulvérisation chromatique von Bouin), färbt sich mit Plasmafarbstoffen und enthält eine Anzahl basichromatischer Nucleolen. Jörgensen bringt diese Momente mit dem Beginn einer gesteigerten Tätigkeit der Zelle, die die Rieseneizelle zu liefern hat, in Zusammenhang, meint aber, daß es sich dabei vielleicht nur um eine historische Reminiszenz handelt, da in Bälde ein erneuter Reaktionsumschwung und eine Anreicherung von Chromatin im Bukettstadium eintritt. Seine Deutung als unterdrückte Teilung stößt in der Ovogenese auf keine Schwierigkeiten. Denn auf diese folgt erst eine zweite Periode der chromatischen Zerstäubung im Kern, die mit der eigentlichen großen Wachstumsperiode Hand in Hand geht.

Vor und während des ersten Zerstäubungsstadiums enthält das Plasma Mitochondrien, dessen nucleäre Herkunft abgelehnt wird. Das Bukettstadium geht aus diesem hervor, indem die Granulationen des Kernes stärker werden, die Nucleolen sich auflösen, und so beitragen, das wieder basische Spirem aufzubauen, das — durchweg längsgespalten — den Kern in Bälde erfüllt. Es folgt wie gewöhnlich eine polare Orientierung der längsgespaltenen, weiter kondensierten Segmente nach einem Punkte der Kernmembran. Jörgensen stimmt mit Goldschmidt, Wassilieff, Popoff, Buchner und andern überein, wenn er in diesem Zustand eine Abgabe chromatischer Substanz beschreibt. Er fand jedoch günstigere Stadien als alle seine Vorgänger, wenn er die einzelnen Chromosomenfäden unmittelbar beträchtlich weit ohne Unterbrechung ins Plasma verfolgen konnte; Stadien, die nicht so aufzufassen sind, daß ganze distale Teile des Chromosoms entfernt werden, sondern daß jeder Faden Chromatin sezerniert und dieses Secret noch eine Zeitlang die auf seine Entstehung hinweisende Form beibehält. Die Fäden, die in einer Vacuole zunächst liegen, können noch lange beibehalten werden (entsprechend den Pseudochromosomen Heidenhains aus dem Hoden des gleichen Tieres) und nur einzelne Nucleolen abgliedern oder auch schon mehr oder minder früh in körnigen Zustand übergehen. Bezüglich der Mechanik des Zellzustandes (Anziehung der Schleifen durch ein Centriol, dessen Anwesenheit an der entsprechenden Stelle im Plasma auch durch Jörgensen und vorher schon durch Heidenhain und Lams wahrscheinlich gemacht wurde, Auflösung der Membran durch dasselbe und so ermöglichter Austritt) stimmt der Verf. mit der vom Referenten (1910) gegebenen Darstellung völlig überein. Der gänzlich unbilligen Kritik, die von Meves an einigen, schon früher publizierten besonders schönen Bildern des Chromidienaustritts geübt worden war, tritt

er mit Recht gebührend entgegen. Jörgensens Überzeugung ist an diesem Punkt besonders wertvoll, da er sonst keineswegs ein Anhänger der Konsequenzen der Chromidienlehre ist.

Neben dieser beschriebenen Abgabe des Chromosoms an Substanz geht mit dem Ende des Bukettstadiums noch ein zweifacher intranucleärer Chromatinverlust der Schleifen vor sich. An ihren Umbiegungsstellen kondensieren sich Nucleolen. Dadurch, daß solche »Degenerationsnucleolen« in immer größerer Zahl abschmelzen, wird dieser Teil des Kernes blaß und nucleolenerfüllt. Der übrige Teil der Schleifen gibt auf dem Wege feiner Pseudopodienbildung Substanz ab. Diese Prozesse führen zu einer maximalen Chromatinzerstäubung des Kernes, während der aber der polare Bau des Kernes noch an einer dauernd verschiedenen Struktur und Farbenaffinität der beiden Hälften deutlich zu erkennen ist.

Die »Degenerationsnucleolen« aber rücken ringsum an die Kernperipherie und werden zu den definitiven Nucleolen des Keimbläschens. Neben ihnen treten unter der Kernmembran noch zahlreichere, viel kleinere sekundäre Nucleolen auf, die — regelmäßig verteilt — in der Folge etwas anwachsen, stets aber nebenher zu beobachten sind. Die Randnucleolen sind scharfbegrenzte Körper, mit einer chromatisch-färbbaren Membran umgeben, bestehen von Anfang an aus zwei verschiedenen Substanzen (Chromatin × Plastin?). Stets sind sie ziemlich innig mit der Kernmembran verbunden, so weit Jörgensens Entwicklungsstadien reichen; nie scheinen sie untereinander zu verschmelzen. Ihre wahrscheinliche Funktion liegt in der Speicherung von Stoffwechselprodukten und der Lieferung von Fermenten, die in Beziehung zum Plasmawachstum und der Dotterbildung stehen.

Auch während des Höhepunkts der chromatischen Zerstäubung der Ovocyte sind in der Regel feinste Faserzüge aufzudecken, durch die die Kontinuität des Chromosomas aufrecht erhalten wird. Von der Polseite her beginnen die Fasern dann wieder an Chromatizität zu gewinnen. Es geht eine allgemeine Rekonstruktion des Kernchromatins von der Seite des Kernes aus in den alten Bahnen des Abströmens vor sich, wo außen die Chromidien (und, wie wir sehen werden, bereits deutoplasmatische Substanzen) liegen. Eine solche Zerstäubung und Neubildung des Kerninhalts der Geschlechtszelle ist bis jetzt nirgends beobachtet worden. (Es kommt eine zweite Serie von Eiern vor, bei denen auch die letzten Faserzüge schwinden. Solche rekonstruieren langsamer und diffus, bei Flemming-Fixierung sind sie an einem eignen grünen Farbton kenntlich[1].) Während dieser Zeit findet ganz allgemein ein chemischer Umschwung in der Zelle statt. Die Bukettchromosomen färbten sich mit basischen Farbstoffen, das rekonstruierte Chromatin mit sauren Plasmafarben.

Das Ende der Rekonstruktion bedeutet auch den Beginn der erneuten Chromosomenbildung. In dem anfangs einheitlichen, oft durchweg längsgespaltenen, Reticulum treten sternförmige Konzentrationen auf. Es entstehen so die bekannten Bürstenchromosomen, deren spätere Verkleinerung vor allem auf Abschmelzung chromatischer Brocken zurückgeführt wird. Endlich wandern die Chromosomen, wie es schon Born für *Triton* beschrieben, in den centralen Teil des Kernes. Es besteht eine Kontinuität etwa im Sinne Ficks.

Unter den Vorgängen im Plasma ist vor allem eine frühzeitige Fettbildung (»interimistische Fettbildung«) interessant. Nach Ablauf des Bukettstadiums

[1]) Ähnliche Differenzen in der Chromosomenkontinuität sind schon für *Triton* von Born beschrieben.

pflegt rund um den Kern, oder nur an einer Kalotte, eine wachsende Hülle von Fetttropfen aufzutreten. Bei einem Weibchen, dessen Ovar im übrigen völlig normal war, fand sich solches Fett schon in den Ovogonien und vermehrte sich während des Bukettstadiums enorm, derart, daß das polare Chromidium das Centrum für das anschießende Fett darstellte und dabei selbst einer regressiven Metamorphose zu Fett erlag. Auch hier umzieht die Substanz in der Folge den Kern. Stets aber beginnt dann hier wie dort eine völlige Assimilation der Substanz, so daß die definitive deutoplasmatische Substanz, soweit sie sich als Fett erweist, hiervon völlig unabhängig an der Peripherie des Eies auftritt. Die Tropfen dieser Randzone beginnen dann von innen nach außen zu (nicht der Größe nach) einem Vacuolisationsprozeß zu unterliegen, der zu einer nahezu vollständigen Verflüssigung führt. Daneben besteht eine eiweißartige Reservesubstanz, die sich auf kleinste Granula im Plasma zurückführen läßt. Diese häufen sich an einer in der Längsachse des Eies gelegenen Stelle zu einem dichten Konglomerate an (»Dotterkern« O. Schulzes bei *Rana*), von dem nicht ausgeschlossen ist, daß ein Centriol den Anlaß zu seiner Entstehung gibt.

Zum Schluß[1]) einiges von den theoretischen Anschauungen des Autors. Die Erklärung des Eiwachstums durch eine einleitende Kernplasmaspannung zugunsten des Kernes (R. Hertwig) kann Jörgensen nicht annehmen, da im Gegenteil zu Beginn der entscheidenden Periode der Kern höchst chromatinarm wird. Eine prinzipielle Durchführung zweier Chromatinsorten in der Metazoenzelle (R. Goldschmidt) ist nicht statthaft. Jörgensen schließt sich vielmehr der Hertwigschen Auffassung von einer nur gelegentlichen funktionellen Trennung beider Substanzen an. Die Chromidienlehre in ihrer weitgehenden Anwendung auf die Metazoenzelle wird abgelehnt. Das im Bukettstadium ausgetretene Chromatin aktiviert nicht etwa die Eizelle, sondern »degeneriert« und Dotter ist nicht auf Chromidien zurückzuführen. Es fehlt überhaupt jede vitellogene Substanz. Popoffs Ansicht, daß die Dotterspeicherung des Eies ein Ausdruck der physiologischen Depression dieser Zelle sei, ist irrig. In der interimistischen Fettbildung glaubt Jörgensen vielleicht eine Regulationsvorrichtung sehen zu dürfen, die den Kern vor Ernährungsstörungen schützt.

P. Buchner (München).

Athias, M. Les phénomènes de division d'ovule dans les follicules de de Graaf en voie d'atrésie chez le Lérot (*Eliomys quercinus* L.). In: Anat. Anz. Bd. XXXIV. S. 1—23. 9 Fig. 1909.

Athias beobachtet bei Ovocyten von *Eliomys* stets vor den Zerfallserscheinungen die Bildung eines ersten Richtungskörpers, sehr selten die eines zweiten; die zweite Reifeteilung erleidet dann mannigfache pathologische Veränderungen, von denen nur besonders die von allgemeinem Interesse scheint, bei der sich an Stelle der normalen Spindel, die der Polstrahlung und der Centriolen völlig entbehrt, eine Anzahl mehr oder weniger selbständiger Teilspindeln findet; denn dies ist ja ein Zustand, der normalerweise häufig zur Bildung der tonnenförmigen Polspindeln führt (*Ascaris*, *Cyclops* und *Sagitta*; für letztere vgl. Ref. über Elpadiewsky in diesem Heft). Eigentliche vielpolige Reifeteilungen dagegen wurden nicht beobachtet, wohl aber nach dem Vorgange van der Strichts für Fledermäuse Karyomeritenbildung nach Abschnürung des ersten Richtungskörpers. Das weitere Schicksal der Ovocyte besteht in einem Zerfall in

[1]) Ich übergehe die genauen Angaben über die Hüllorgane des Eies (zona radiata).

mehrere Teilstücke, die teils kernhaltig sind, teils nicht. Ob diese Kerne auf mitotischem Wege entstanden sind, ist nicht sicher; ebensowenig weiß der Verf., ob die eventuelle parthenogenetische Furchungsspindel nicht der zweiten Richtungsspindel entspricht, wie es die Autoren wollen, die eine Wanderung der letzteren centralwärts beobachteten. In dem Streit, ob diese zusammenhangslosen Fragmente mit parthenogenetisch entstandenen Blastomeren etwas zu tun haben (Bonnet, Sobotta, Rubaschkin contra Henneguy, Rabl, Spuler, van der Stricht, L. Loeb) neigt er zur verneinenden Partei (Bonnet usw.), obwohl die Gründe derselben wenig stichhaltig sind. Der Nachweis, daß die »erste Furchungsteilung« bloß eine centrale zweite Reifeteilung darstelle, ist für den, der die zoologische Literatur der physiologischen und experimentellen Parthenogenese kennt, keineswegs ein Gegengrund, denn auf beiden Gebieten (Brauer für *Artemia* und Kostanecki für *Mactra*) kommt Analoges vor. Auch die Vielpoligkeit und die Karyomeritenbildung sind sonst Begleiterscheinungen der parthenogenetischen Reifung und nach der Meinung des Referenten kann der mangelhafte Gaswechsel der ausgestoßenen Eier in gleicher Richtung die Zelle, insbesondere den Teilungsapparat, beeinflussen, wie etwa die Kohlensäurevergiftung das *Asterias*-Ei (vgl. meine Untersuchung hierüber in Bd. VI dieses Archivs).

P. Buchner (München).

Sobotta, J. und Burckhard, G. Reifung und Befruchtung des Eies der weißen Ratte. In: Anatom. Hefte. Bd. XLII. Heft 127. S. 433—497. 4 Taf. 1910.

Vor der ersten Reifeteilung verkleinert sich der Ovocytenkern in hohem Grade, ohne daß die Kernmembran schon sich auflöst. Die rundlichen Tetraden ballen sich zu einem Klumpen, der sich später in die Äquatorialplatte einstellt. Die Form der ersten Reifeteilung steht zwischen einer typischen Tonnenfigur und einer echten Spindel. Die Pole sind stets offen, nie ist etwas von Centriolen zu sehen, wohl aber Anhäufungen von Mitrochondrien an diesen Stellen.

Die für die Erscheinungen der künstlichen Parthenogenese nicht uninteressanten Beobachtungen Rubaschkins, van der Strichts und andrer, daß im Falle der Follikelatresie deutliche Polstrahlungen auftreten (nach einigen sogar Centriole), konnte bestätigt werden. Die achromatische Spindelfigur entsteht auch hier wahrscheinlich aus dem Kerngerüst.

Die zweite Reifeteilung des Eies trifft man im Eileiter, nachdem der erste Richtungskörper auf rätselhafte Weise schnell verschwindet, was schon viele Autoren konstatierten. Sie ist von der ersten verschieden, fast doppelt so lang, etwas schmäler, die Fasern viel stärker. Die Form ist eine leicht S-förmige, die polaren Mitochondrien sind viel zahlreicher. Große Differenzen, zum Teil in gleicher Richtung, hat Sobotta schon für die Maus beschrieben, bei der jedoch die zweite Reifeteilung der ersten an Größe nachsteht.

Wie bei allen bisher untersuchten Säugetieren wartet die zweite Reifeteilung im Stadium der Äquatorialplatte auf das Spermium. Von diesem tritt bei der Ratte sicher das hier sehr lange Verbindungsstück, dessen Spiralfaden nach den Beobachtungen Duesbergs aus den Mitochondrien der Spermatide gebildet wird, mit in das Ei ein. Es nimmt zu an Färbbarkeit, und läßt sich an der Spirale bis in späte Vorkernstadien verfolgen. Am hinteren Ende des Spermakopfs entsteht eine Strahlung, ausgehend von einem Diplosom. Die Rekonstruktion der beiden Vorkerne bietet nichts Besonderes; der männliche ist meist kleiner.

Bezüglich des Verhaltens der Chromosomen glauben die Verfasser eine völlige Übereinstimmung mit den entsprechenden Beobachtungen Duesbergs am Hoden zu finden. Bei einer Annahme einer parallelen Konjugation würde sich die erste Teilung als Reduktionsteilung, die zweite als Äquationsteilung darstellen.

P. Buchner (München).

Montgomery, Thos. H. jr. Are Particular Chromosomes Sex Determinants? In: Biol. Bull. Vol. XIX. p. 1—17.

Nach einer kurzen Übersicht über die Geschlechtsbestimmungshypothesen, die sich an die Existenz von Heterochromosomen bisher geknüpft haben, und einige gegnerische Stimmen hierzu, trägt Montgomery eine Reihe von Punkten zusammen, die gegen die Annahme sprechen, daß einzelne Allosome als Geschlechtsdeterminanten funktionieren, Punkte, die zum Teil bereits von andern Autoren in diesem Sinne verwendet worden sind. 1. Montgomery, Payne und Mc Clung haben Kombinationen von Heterochromosomen beschrieben, die gelegentlich der Samenreifung so verteilt werden, daß nicht zwei, sondern mehr Spermiensorten entstehen. 2. Einen einzigen Fall (*Salomonia*, Cardiff 1906) ausgenommen, hat man bei keiner Pflanze entsprechende Differenzen aufgefunden; zum mindestens handelt es sich also um keine allgemeine Erscheinung. 3. Es gibt eine Menge geschlechtlich prädeterminierte Eier (Reblaus, Rotatorien, *Dinophilus*, Ascarinen); *Phylloxera* ist nach Morgan (1909) sicher schon vor der Richtungskörperbildung sexuell determiniert. 4. Bei Parthenogenese vermögen von einem Tier beide Geschlechter erzeugt werden, ohne Befruchtung mit zweierlei Samen (Rotatorien, Aphiden, Daphniden, *Phylloxera*). 5. Das Ei eines hermaphroditen Tieres vermag mit einem Spermium befruchtet, zwei verschiedengeschlechtliche Keimdrüsen zu bilden. 6. Die Beobachtungen Morgans, die, eine gesonderte Wirkung der Heterochromosomen auf den Organismus vorausgesetzt, deren quantitative Unterschiede in beiden Geschlechtern als das Wesentliche erscheinen lassen, ließen sich auch so deuten, daß die Massendifferenzen des gesamten Chromosomenkomplexes das Entscheidende sind. 7. Die Hypothese vernachlässigt eine mögliche Beteiligung des Plasmas und seiner Inhaltsprodukte (Mitochondrien) an der Geschlechtsbestimmung. 8. Die Vorstellung, die wir uns ihrgemäß von einer ganz autonomen Einwirkung einzelner Kernkomponenten auf den Organismus machen müßten, setzt die physiologische Einheit eines funktionierenden Kernes völlig hintan und vergißt, daß die Gesamtleistung einer Zelle, abgesehen von einer komplizierten Wechselwirkung zwischen Kern und Plasma, nur durch eine nicht minder komplizierte, aus mannigfachen Wechselbeziehungen der Einzelteile resultierenden Tätigkeit aller Chromosomen zustande kommt. »The hypothesis is too naive, it assumes too great simplicity of the cell.«

Das Resultat der Betrachtung ist das gleiche, zu dem auch ich kürzlich gelangt bin. (Zur Bedeutung der Heterochromosomen. Arch. f. Zellf. Bd. V). Wir beide zitieren den Satz Morgans: "The accessory chromosome may follow sex or be associated with other differences that determine sex, rather than be its sole cause"[1]).

P. Buchner (München).

[1]) Häcker (1911) erklärt sich in seinem neuen Buche ebenfalls in diesem Sinne und gibt der Auffassung den Namen »Indexhypothese«.

Stevens, N. M. Further Studies on Heterochromosomes in Mosquitos. In: Biol. Bull. Vol. XX. p. 109—120. 28 Textfig. 1911.

Die Untersuchung weiterer Dipteren hat bezüglich der Heterochromosomenverhältnisse zu beträchtlichen Verschiedenheiten bei ganz nah verwandten Formen geführt. Bei *Culex* und *Theobaldia* hatten alle Chromosomen gleiche Kondensationstendenz und nirgends war von einer sichtbaren »geschlechtsbestimmenden« Chromosomendifferenz etwas zu beobachten.

Anopheles punctipennis zeigt nun in den Ovogonienäquatorialplatten zwei Chromosomenpaare mit homologen Komponenten und ein Paar, das aus je zwei längeren und zwei kürzeren Komponenten zusammengesetzt ist. Im Hoden ist das so mit den Autosomen verklebte Paar ungleich groß. *Culex* zeigte in den Spermatocyten nur ein Plasmosom, *Anopheles* mit diesem verquickt einen chromatischen Körper von variabler Gestalt, meist an der Kernperipherie liegend, gelegentlich aber sich deutlich als Heterochromosomenpaar bekundend, indem er dann den Enden zweier aufgelockerter Chromosomen in Form von zwei chromatischen Nucleolen angeklebt ist. Die erste Reifeteilung trennt sie, indem sie an die beiden distalen Enden des einen Paares angehängt bleiben und hier deutlich noch ihre verschiedene Größe erkennen lassen.

Stevens bekommt bei solchen Variationen Bedenken wegen der extremen bisherigen Fassung der Geschlechtsbestimmungshypothese und schreibt über die Heterochromosomen: "possibly they have some other meaning and are only so correlated with the sex-determining mechanism[1]), that they have the same distribution as the sex characters. The case of the mosquitoes certainly indicates that we must study the heterochromosomes, apart from the idea of sex-determination, more intensively, in order to determine if possible why we have such chromosomes differentiated in some forms and not in others" (Stevens meint, daß diese Differenzierung vielleicht in direkter Beziehung zur geschlechtlich-begrenzten Vererbung gewisser Charaktere stehe).

P. Buchner (München).

Dehorne, Arm. Le mécanisme de la réduction numérique dans la spermatogénèse de *Ophryotrocha puerilis* Clprd.-Mecz. In: Zoolog. Anz. Bd. XXXVI. S. 209—222. Mit 16 Fig. 1910.

Es ist die vierte Untersuchung des Reduktionsmodus der *Ophryotrocha*, die Dehorne vornimmt (Korschelt 1895, Grégoire und Deton 1906, A. und K. E. Schreiner 1906). Bei der vor allem wichtigen Feststellung der Normalzahl der Chromosomen kommt er zur Zahl 4. In jeder Anaphase von somatischen Zellen und Spermatogonien gibt es vier Schleifen. Jedoch schon in der Telophase erleiden sie bei ihrer Auflockerung eine Längsspaltung, die schon die Vorbereitung für die nächste Teilung darstellt. (Andre Objekte lassen bekanntlich schon während der Anaphase am kompakten Chromosom einen Längsspalt erkennen.) Jeder »Ruhekern« enthält so deutlich individualisiert die doppelte Chromosomenzahl, die vor der nächsten Mitose durch die paarweise erneute Konzentration nicht völlig schwindet, so daß die Prophase und Metaphase die doppelte Zahl besitzen und die wahre Zahl nur in der Anaphase erkennbar ist. Prinzipiell das gleiche geht nun in den Spermato-

[1]) Von mir gesperrt.

cyten erster Ordnung vor sich. Das leptotäne Bukettstadium besitzt acht orientierte Schlingen, die aus der Teilung der vier Chromosomenschleifen in der Telophase entstanden sind und die sich, wie vor der somatischen Mitose allmählich wieder zusammenlegen zu vier Schleifen, die so längsgespalten erscheinen (pachytänes Stadium). Diese kondensieren sich zu vier Dyaden, dicken Stäben, die an beiden Enden etwas hakenförmig eingebogen sind und stets zu je zweien beisammen liegen. In der Mitose wandert je eine dieser beiden Gruppen in eine Tochterzelle, so daß die erste Reifeteilung weder Längs- noch Querteilung ist und ganze Chromosomen reduziert. Die zweite Teilung teilt die Dyaden nun nach dem noch erhaltenen Längsspalt, der bei der Telophase der letzten Spermatogonienteilung entstanden war (Äquationsteilung).

Das waren auch fast völlig die Resultate, zu denen Korschelt für die Ovogenese gekommen war, nur daß dieser, der als Zahl auch 8 neben 4 gelegentlich vorkommen läßt, unmittelbar vor der ersten Reifeteilung je zwei Dyaden mit den Enden kopulieren läßt und dann von der Mitose wieder trennen. Dehornes Schilderung aber stellt einen reinen Primärtypus dar. Die beiden Schreiner dagegen und Grégoire erklärten 8 als Normalzahl, ließen natürlich längs konjugieren, dadurch reduzieren, ihre Interpretation der Verhältnisse ist «complètement erronée».

P. Buchner (München).

Blackmann, M. W. Spermatogenesis of the Myriopods. IV. An Analysis of the Chromosome Group of *Scolopendra heros*. In: Biol. Bull. Vol. XIX. p. 138—158. 2 Tabl. 1910.

Scolopendra heros zählt in den Spermatocyten erster Ordnung 16 Tetraden und ein univalentes accessorisches Chromosom. Die Bildung dieser Tetraden verläuft wie bei den Orthopteren nicht nur nach einem Modus, sondern es finden sich im gleichen Kern mannigfaltige Bilder, die sich in vier Gruppen scheiden lassen. Ausgangspunkt ist das end to end konjugierte, längsgespaltene Chromosomenpaar (siehe Blackmann 03, 05), das noch eine deutliche quere Marke trägt. Durch Auseinanderweichen der verklebten Enden entstehen Kreuze, durch V-förmiges Umklappen parallele Stäbe, in deren Längslinie die Chromosomengrenze fällt, durch Kondensierung ohne Bildung von Kreuzarme Stäben, bei denen die Chromosomengrenze quer zieht, ein Fall, der endlich durch ein zopfartiges Drehen der längsgespaltenen Hälften noch etwas kompliziert werden kann. Die Verteilung dieser Typen ist aber keineswegs willkürlich, sechs gehen nach dem ersten, je fünf nach dem zweiten und dritten. Die für viele Gruppen typische Ringbildung, die vom zweiten Fall abzuleiten ist, fehlt den Myriopoden. Blackmann vertritt das gleiche Prinzip, wie der Referent bei der Deutung der Vorgänge im Heuschreckenhoden, wenn er nun die mannigfachen Tetradenformen der Äquatorialplatte der ersten Reifeteilung auf jene Entstehungsmöglichkeiten zurückführt, und so in ihnen die Lage der Chromosomengrenze und den Wert der Teilung erschließt. Er kommt aber dabei zu der Ansicht, daß nicht die Chromosomengrenze die Teilungsebene bestimmt, sondern daß in der ersten Reifeteilung fünfzehn Tetraden längsgeteilt werden (Äquationsteilung), eine scheint quer durchgeteilt zu werden (Reduktion). Das Heterochromosom geht ungeteilt in eine Zelle. Blackmann kommt zu der Auffassung, da er z. B. bei Kreuzen von der Konstitution $\frac{a}{b}\left|\frac{a}{b}\right.$ sieht, daß eine Zugfaser bei dem rechten a, eine andre bei dem linken b ansetzt und nun die Komponenten entsprechend der Senkrechten auseinandergezogen werden.

P. Buchner (München).

Sobotta, S. Über das Verhalten der Spermatozoen im Uterus der Säugetiere. Nach Befunden bei Nagetieren (Maus, Ratte u. a.). In: Zeitschr. f. Morph. u. Anthrop. Bd. XIII. S. 201—208. 1 Taf. 1910.

Kohlbrugge hatte 1910 in der Zeitschr. f. Morph. u. Anthrop. Aufsätze über das Verhalten des männlichen Ejakulates im Uterus einer javanischen Fledermaus veröffentlicht, deren Inhalt Sobotta mit Recht veranlaßt, ihnen entgegenzutreten. Die Uteruswand sollte nach Kohlbrugge auf die Spermien eine anziehende Wirkung ausüben, die Spermien sollten in dieselbe eindringen, nicht nur Epithel, sondern auch Schleimhaut durchsetzen, sich mit den mütterlichen Kernen hier vereinigen usw.! Sobotta revidiert seine alten Angaben, die Kohlbrugge gar nicht kennt, und hält sie verändert aufrecht. Es bestehen keinerlei Beziehungen zwischen Uteruswand und Spermien. Kohlbrugge hat in Java, wo er bis vor kurzem als Arzt tätig war, sein Material nur sehr primitiv fixiert und vielleicht sind es — nach Sobotta — die schlecht fixierten Schleimhautkerne, die er für Spermienköpfe gehalten hat.

P. Buchner (München).

Artom, Cesare. La sistematica del genere *Artemia* in relazione col numero dei cromosomi delle cellule sessuali e in relazione col numero e colla grandezza delle cellule somatiche. In: Biolog. Centralblatt. Bd. XXXI. S. 104—108. 1911.

Artom hat schon früher mitgeteilt (s. Ref. in diesem Archiv), daß *Artemia salina* in Cagliari 42 Chromosomen besitzt und sich nie parthenogenetisch fortpflanzt im Gegensatz zu der Rasse in Capodistria mit 84 Chromosomen und parthenogenetischer Fortpflanzung. Er hat inzwischen Tiere von Capodistria in die Bedingungen von Cagliari gebracht, wobei sich die Rasseeigentümlichkeiten als konstant erwiesen. Es hat sich weiterhin die interessante Tatsache herausgestellt, daß bei der Form mit der halben Chromosomenzahl Zellen und Kerne viel kleiner, aber zahlreicher sind, als bei der mit 84, und daß hier somit die Boverischen Sätze, die er von den klassischen *Echinus*-Experimenten abgeleitet hat, eine Bestätigung finden. Gates hat schon die gleichen Befunde an der *Oenathera gigas* gemacht (einer Mutation von O. Lamarckiana mit doppelter Chromosomenzahl). Wie dort, glaubt Artom auch für *Artemia* annehmen zu dürfen, daß die »*Artemia parthenogenetica*« von Copodistria eine specifische Weiterentwicklung der ursprünglichen »*Artemia sexuata*« darstellt, der ein systematischer Wert zukommt.

P. Buchner (München).

Schneider, K. C. Histologische Mitteilungen. III. Chromosomengenese. In: Festschrift f. R. Hertwig. Bd. I. S. 213—232. 3 Taf. Jena 1910.

Schneider studiert eingehend die Chromosomenentwicklung bei der Mitose von *Salamandra*. Er stützt und modifiziert zum Teil die Bonnevieschen Angaben über den Spiralbau des Chromosoms. Dieses enthält in allen Stadien der Prophase zwei parallel verlaufende Spiralen (die elementaren »Miten« Schneiders),

eine Kittsubstanz vereinigt die beiden, nachdem auf frühen Prophasestadien eine paarweise, die Mitose einleitende Funktion derselben stattgefunden hat. Die Mitose trennt die beiden »Miten«, die sich alsbald während der Anaphase oder Telophase aufs neue zu zwei umeinander geschlungene Spiralen verdoppeln. Bonnevies Auffassung von dem hohlcylindrischen Bau des Anaphasenchromosoms hält Schneider für irrtümlich und findet für seine Anschauung Belege in den bisherigen Angaben über Längsspalte des Chromosoms zu dieser Zeit. Die Rekonstruktion des Tochterkerns soll weder durch hochgradige Vacuolisation des Chromosomas (van Beneden, Herla, Grégoire usw.) noch durch eine Art Pseudopodienbildung (Boveri) vor sich gehen, sondern durch Lockerung der Spiralen und Umwandlung in ein scheinbar diffuses Gerüst, in dem sie aber wohl immer in besonderen Strukturbezirken einander eng zugeordnet bleiben. Die zwei konjugierenden Miten der frühesten Prophase gehen unmittelbar auf sie zurück. Boveris Individualitätslehre erkennt Schneider bei solchen Befunden, die gute Figuren belegen, natürlich vollinhaltlich an.

P. Buchner (München).

Popoff, M. Ein Beitrag zur Chromidialfrage. Nach Untersuchungen an Musciden. In: Festschrift f. R. Hertwig. Bd. I. S. 19—48. 3 Taf. Jena 1910.

Popoff untersuchte die Fettzellen, Oenocyten und Pericardialzellen der erwachsenen Stubenfliege. In allen drei Zellensorten fanden sich Bilder, die für eine Chromatinsecretion des Kernes sprechen und sich in Reihen ordnen lassen, die von ruhenden Kernen zu solchen führen, an deren Peripherie teils im Kern, teils außerhalb chromatische Schollen liegen, die einmal durchgetreten, sich entweder diffus im Plasma zerstreuen oder (bei den Pericardialzellen) aus einer geschlossenen Körnerzone einen Ring an den Kern kondensieren. Die interessanten Bilder, die so entstehen, sind aber nur vorübergehend. Der Ring zerbricht in Schollen, die zum Teil peripher wandern. Die Bewegung der Chromidien ist von der Plasmastruktur und den im Plasma herrschenden Diffusionsströmen abhängig; auch ihre Form muß in Abhängigkeit von diesen Faktoren stehen. Das Schicksal der Chromidien ist stets auch in diesen Zellen das einer regressiven Metamorphose, die zur Bildung deutoplasmatischer Substanzen führt. Popoff betont endlich den tiefgehenden Parallelismus zwischen Drüsenzellen und Geschlechtszellen, gerade auf Grund der analoge Produkte liefernden Chromidienbildung und bekennt sich zu der Richtung, die trotz Meves und Duesberg Mitochondrien, Chondriokonten, Nebenkerne usw. als sekundäre, auf Grund von Chromidien entstandene Plasmaeinschlüsse hält.

P. Buchner (München).

Erhard, H. Diplosomen und Mitosen im cilientragenden Ependym eines Haifischembryo. In: Anat. Anzeiger. Bd. XXXVIII. S. 188 bis 190. 3 Fig. 1911.

Die Flimmerzellen aus der Lamina chorioidea von *Acanthias* besitzen deutliche Basalkörper, von denen sehr feine Fäden ins Plasma ziehen, die wohl echten Faserwurzeln entsprechen. Unter der Basalkörperreihe liegt in einer Vacuole ein Diplosom, von dem beobachtet werden konnte, daß es der Teilung der Zelle vorsteht, während, wie gewöhnlich, die übrigen hochgradigen Differenzierungen eingeschmolzen werden.

P. Buchner (München).

Schultze, Osk. Über die Genese der Granula in den Drüsenzellen. In: Anat. Anzeiger. Bd. XXXVIII. S. 257—264. Mit 2 Taf. 1911.

Schultze gibt hübsche Bilder, die mit seiner Osmiumhämatoxylinmethode gewonnen sind. von der Parotis der Maus. vom Pankreas des Frosches, Niere vom Frosch und Maus, Zungendrüse des Frosches, bei deren Betrachtung sich ergibt, daß die Filarstruktur in den Drüsenzellen weit verbreitet ist und daß »wohl allgemein die Drüsengranula aus den innerhalb der Filarmasse (Chondriokonten) auftretenden Plasmosomen hervorgehen«.

P. Buchner (München).

Firket, J. Recherches sur la genèse des fibrilles épidermiques chez le poulet. In: Anat. Anz. Bd. XXXVIII. S. 537—549. Mit 3 Fig. 1911.

Firket schildert die histologischen Vorgänge bei der Verhornung des Hühnerschnabels. Die basale Zone der Mucosa nehmen polyedrische Zellen ein, die bei Fixation nach Meves reich an Chondriosomen ist. Diese strecken sich und werden zu welligen Fäden. je weiter die Zelle gegen die Oberfläche zu liegt. Hier ließen sie sich nun auch mit andern Fixationen darstellen. Vor der eigentlichen Verhornung ist die ganze Zelle dicht erfüllt mit meist gleichgerichtet verlaufenden Fibrillenmassen, die jetzt einen chemischen Umschwung erleiden. Anfangs basophil. werden sie acidophil. Allmählich verdecken sie sich und der ganze Zellkörper wird homogen.

Im Gegensatz zu den Fibrillen an der Epidermis vieler Säugetiere, die Ranvier (1879) zum erstenmal beschrieben hat, sind die von Firket an Schnabel und Feder beobachteten auf die Zelle beschränkt, in der sie entstanden sind. Doch werden die entsprechenden Strukturen bei Vögeln und Säugern von den meisten Autoren für homolog erklärt, da sie chemisch, strukturell und in ihrem Verhalten bei der Verhornung im übrigen sich gleichen. Ihre gleiche Entstehung machen Beobachtungen Firkets an der Haut des Menschen sehr wahrscheinlich (im Einklang mit Regaud 1910).

Die Strukturen reihen sich also hinsichtlich ihrer Genese den kollagenen Fibrillen, Neurofibrillen und Myofibrillen an.

P. Buchner (München).

Die Morphologie des Stoffwechsels bei Ascaris lumbricoides.

Ein Beitrag zur physiologisch-chemischen Morphologie der Zelle.

Von

G. v. Kemnitz.

(Aus dem Zoologischen Institut München.)

Mit 9 Textfiguren und Tafel XXXIV—XXXVIII.

Inhalt.

Seite

A. Einleitung 465
a) Vorkommen des Glykogens im allgemeinen 466
b) Vorkommen und Physiologie des Glykogens bei *Ascaris* 466
c) Material und Methoden 467
B. Spezielle Stoffwechselmorphologie bei *Ascaris* 470
I. Das Glykogen 470
a) Beschreibender Teil 470
aa) Das Glykogen beim gut ernährten Tier 470
1. Oesophagus 470
2. Darm 474
3. Muskulatur 477
aaa) Körpermuskelzellen 477
bbb) Dilatator des Chylusdarms 480
ccc) Spicular- und Bursalmuskulatur 481
4. Subcuticula 481
5. Seiten-, Rücken- und Bauchlinien 481
6. Zellelemente des Kopfes 484
7. Ovarien 485
8. Hoden 487
9. Spicularapparat 494
10. Isolationsgewebe 495
11. Phagocytäre Organe 498
12. Cuticula 499
13. Nervensystem 500

Seite

bb) Das Glykogen beim Hungertier 501
1. Oesophagus 501
2. Darm 503
3. Muskulatur 503
aaa) Körpermuskelzellen 503
bbb) Dilatator des Chylusdarms 505
ccc) Spicular- und Bursalmuskulatur 505
4. Subcuticula 505
5. Seiten-, Rücken- und Bauchlinien 505
6. Zellelemente des Kopfes 506
7. Ovarien 506
8. Hoden 506
9. Spicularapparat 506
cc) Das Glykogen bei in der Kälte und im Licht gehaltenen Tieren . 506
dd) Glykogenablagerungen nach Dextroseinjektionen bei *Ascaris* . . 507
ee) Zur Morphologie des Glykogens bei verwandten Formen 508
b) Theoretischer Teil 510
aa) Das Glykogen im *Ascaris*-Körper 510
bb) Overtons Plasmahaut und Kohlehydratstoffwechsel 512
cc) Form der Glykogenablagerungen und »Trägersubstanz« 514
dd) Glykogen und Eireife 516
ee) Glykogen und Kalkkörperchen der Tänien 517
ff) Das »Kernglykogen« 518
gg) Arnolds Untersuchungen 519
hh) Holmgrens Untersuchungen 521
ii) Glykogen und Muskelarbeit 522
II. Das Fett 523
a) Beschreibender Teil 523
aa) Morphologie des Fettes 523
1. Oesophagus, Ovarien, Hoden, Isolationsgewebe und Cuticula 524
2. Darm 524
3. Nervensystem 524
4. Muskulatur 525
5. Seiten-, Rücken- und Bauchlinien 525
6. Subcuticula 525
bb) Die Beziehungen zwischen Glykogen und Fett 525
b) Theoretischer Teil 527
aa) Ist die Osmiumschwärzung im *Ascaris*-Körper durch Fett bedingt? 527
bb) Die Bedingungen der Osmiumschwärzung durch Fett 527
cc) Bildung und Bedeutung der Fettablagerungen 528
III. Stickstoffeinsparung durch Spermatozoenresorption des Uterusepithels bei *Ascaris* 531
IV. Chromidialapparat, metachromatische Stränge und Kern 534
a) Beschreibender Teil 534
aa) Die normale Ausbildung der metachromatischen Stränge 534
1. Oesophagus 534
2. Muskulatur 538

Seite
aaa) Körpermuskelzellen 538
bbb) Dilatator des Chylusdarms 538
ccc) Spicular- und Bursalmuskulatur 539
3. Darm 539
4. Drüsenzellen des Enddarms und Ovogonien 542
bb) Metachromatische Stränge und Organfunktion 542
cc) Beziehungen zwischen metachromatischen Strängen und Glykogen 546
1. Bei guter Ernährung 546
2. Im Hungerzustand 547
3. Bei Reizung 550
4. Nach Dextroseinjektion 550
dd) Mikrochemisches Verhalten der metachromatischen Stränge . . 551
ee) Die metachromatischen Stränge bei verwandten Formen 558
ff) Pseudochromidienbildung und Chromatinsynthese bei *Ascaris* . . 559
b) Theoretischer Teil 564
aa) Die Natur der metachromatischen Stränge 564
bb) Beziehungen zwischen Chromidialsubstanz, Kern und Kohlehydraten bei Protozoen 571
cc) Interpretation der Goldschmidtschen Befunde durch Vejdovsky und Bilek. 574
dd) Neuere Untersuchungen über die Chromidien der Metazoen . . 577
ee) Derzeitiger Stand der Lehre vom Chromidialapparat der Metazoenzelle 581
ff) Mechanismus der Chromidienbildung 582
gg) Chromatinsynthese und Chromidien 583
hh) Chromidien und Mitochondrien, Chondriosomen usw.. 585
ii) Apparato reticolare, Trophospongien und Chromidien 588
C. Schluß und Nachtrag 592

A. Einleitung.

In den zahllosen Arbeiten der vergangenen Jahre, die den bekannten Nematoden *Ascaris lumbricoides* zum Gegenstand der Forschung haben, waren es vornehmlich zwei Richtungen, in denen die Untersuchungen sich bewegten: einmal das Studium der Reifungs- und Befruchtungserscheinungen, anderseits die Erforschung der Histologie des Wurmes. Die vorliegende Untersuchung bewegt sich in etwas andern Bahnen. Seit den gründlichen Untersuchungen Weinlands (1901a, b, 1902a, b, 1903), auf die noch weiter unten eingehender zurückzukommen sein wird, sind wir mit der äußerst interessanten Physiologie von *Ascaris*, bei der ein Polysaccharid, das aus der Wirbeltierphysiologie und -Pathologie hinreichend bekannte Glykogen, die Hauptrolle spielt, unterrichtet. Da nun durch Best (1906) eine Methode geschaffen wurde, die es gestattete, mikrochemisch einwandsfrei und dabei praktisch elektiv das Glykogen

zur Darstellung zu bringen, schien es eine dankbare Aufgabe, zu versuchen, auf morphologischem Wege den Stoffwechsel von *Ascaris* etwas eingehender zu untersuchen, zumal da über den Gegenstand nur zwei Arbeiten vorliegen (Brault und Loeper 1904, Busch 1905), auf die noch weiter unten näher einzugehen sein wird. Da wir ferner seit längerer Zeit mikrochemische Reagenzien besitzen, um einen zweiten, im Tierreich eine hervorragende Rolle spielenden Reservekörper, das Fett, genauer zu studieren, so war es von Interesse, die gegenseitigen Beziehungen beider Körper zu untersuchen. Schließlich mußte die Frage nach der Existenz und Natur des von Goldschmidt (05) bei *Ascaris* gefundenen Chromidialapparats eine eingehende Prüfung erfahren. Von diesen Gesichtspunkten aus ergibt sich der Plan der Untersuchung von selbst.

a) Vorkommen des Glykogens im allgemeinen.

Das Glykogen ist bekanntlich ein Polysaccharid von unbekannter Molekulargröße. Die elementare Zusammensetzung wird nach Pflüger (1903) durch die Formel $(C_6H_{10}O_5)_x$ zum Ausdruck gebracht. Von Claude-Bernard zuerst in der Wirbeltierleber entdeckt, erkannte man bald die große Rolle, die das Glykogen nicht nur im Wirbeltierkörper, sondern auch bei den niederen Tieren spielt. So ist es bei Protozoen, Würmern, Mollusken und Arthropoden in reichlichen Mengen nachgewiesen worden (vgl. v. Fürth 1903). Während aber bei den niederen Tieren das Vorkommen des Glykogens normalerweise an bestimmte Organe geknüpft ist (Muskulatur und Mitteldarmdrüse bei Mollusken und Arthropoden, Muskulatur und Parenchym bei Würmern), finden sich bei den Wirbeltieren kleine Mengen von Glykogen fast in allen Organen, vornehmlich aber auch hier in Leber und Muskulatur. Ohne auf das Verhalten des Glykogens im Tierkörper im allgemeinen näher einzugehen, sei bemerkt, daß es als eine Reservesubstanz aufzufassen ist, bestimmt im Falle des Bedarfs durch saccharifizierende, diastatische Fermente in Traubenzucker übergeführt und so dem allgemeinen Stoffwechsel zugänglich gemacht zu werden. Es verhält sich demnach in allen wesentlichen Punkten ähnlich wie das Reservekohlehydrat der Pflanzen, die Stärke, weshalb man es wohl auch mit dem Namen tierische Stärke belegt hat.

b) Vorkommen und Physiologie des Glykogens bei Ascaris.

Wir wenden uns nunmehr zu einer kurzen Darstellung der Rolle, die das Glykogen bei *Ascaris* spielt. Schon Foster (1865) hatte das Vorkommen von reichlichen Glykogenmengen bei *Ascaris* erkannt. Nach

ihm war es besonders v. Bunge (1883, 1889), der sich mit der Physiologie dieses Wurmes beschäftigte. Aber erst Weinland (1901a, b, 1902a, b, 1903) gelang es, den eigentümlichen Stoffwechsel des Parasiten völlig aufzudecken. Weinland ermittelte zunächst den außerordentlich hohen Glykogengehalt, der fürs frische Tier 4,2—7,1%, für die Trockensubstanz 20—34% beträgt. Von größtem Interesse sind nun die Ergebnisse über die Rolle, die das Glykogen im Leben von *Ascaris* spielt. Weinland stellte fest, daß der Glykogengehalt des Tieres im Hungerzustand abnimmt (0,7% pro Tag) und dafür als Zersetzungsprodukte auftreten Valeriansäure und Kohlensäure (0,4% CO_2 und 0,3% $C_5H_{10}O_2$). Es liegen also hier Verhältnisse vor, die die allergrößte Ähnlichkeit haben mit den bakteriellen Gärungen, wie alkoholische und besonders Buttersäuregärung, bei welch letzterer Dextrose in Buttersäure, Kohlensäure und Wasserstoff gespalten wird. Weinland hat die Kohlehydratzersetzung bei *Ascaris* daher auch als »tierische Gärung« bezeichnet. Äußerst interessant sind die Berechnungen über den Nutzeffekt dieser Gärung, bei der sich herausstellt, daß durch sie weniger als 25% der sonst bei Dextroseverbrennung im höheren Tier erzielten Kalorien für *Ascaris* nutzbar gemacht werden. Es liegt auf der Hand, daß eine so schlechte Ausnutzung der Nahrung nur bei einem Tier möglich ist, das wie *Ascaris* im Nahrungsbrei des Wirtes Überfluß an Nahrung hat. Weinland (1902a) stellte ferner fest, daß die Bildung des Glykogens bei *Ascaris* analog der beim höheren Tier aus Dextrose erfolgt. Nach Dextroseinjektionen konnte er während des Hungers nicht nur eine Ersparnis beim täglichen Glykogenverlust, sondern sogar einen Ansatz von Glykogen beobachten. — Ohne auf Einzelheiten einzugehen, habe ich vorstehenden Erörterungen absichtlich einen etwas breiteren Raum gegönnt, da sie einmal für unsre späteren Betrachtungen von Interesse sind, dann aber auch weil die Weinlandschen Untersuchungen in der Literatur zum Teil eine unrichtige Darstellung erfahren haben, die an dieser Stelle richtig gestellt seien. Es handelt sich hier nicht darum, daß *Ascaris* Sauerstoff durch Spaltung erhält (Marcus 1906, Doflein 1909), sondern im Gegenteil darum, daß wir es bei *Ascaris* mit einem Tier zu tun haben, das die für seinen Haushalt nötige Energie nicht durch Oxydation wie die aeroben, sondern durch Spaltung wie die anaeroben Organismen gewinnt.

c) Material und Methoden.

Als Material für die vorliegenden Untersuchungen diente in erster Linie *Ascaris lumbricoides*. Daneben wurden zum Vergleich noch einige andre weiter unten zu erwähnende Formen untersucht. Die Tiere wurden

in der Mehrzahl der Fälle dem noch lebensfrischen Schweinedarm entnommen und an Ort und Stelle fixiert. Von Fixierungsflüssigkeiten konnten für die Untersuchung der Morphologie des Glykogens nur solche verwandt werden, in denen sich das Glykogen nicht löst, also nur alkoholische, keine wässerigen. Da laut Röhmann (1908) das Glykogen von 55%igem Alkohol ganz ausgefüllt wird, kommen sowohl Schaudinnsche wie Carnoysche Flüssigkeit in Betracht, von denen die letztere vorzügliche Resultate gibt (die geringe Menge Essigsäure des Gemisches kommt zumal bei kalter Anwendung für eine eventuelle Inversion des Glykogens nicht in Betracht, wie Kontrollfixierungen mit absolutem Alkohol lehren). Eingebettet wurde in Paraffin (nicht wie Best (1906) vorschreibt in Celloidin). Lösungserscheinungen des Glykogens bei nachfolgender Bestscher Carminfärbung waren dabei nicht zu bemerken. Dagegen verlangt ein Punkt besondere Beachtung, nämlich das Aufkleben der Schnitte mittels Wasser. Bei den technischen Schwierigkeiten, die *Ascaris* bietet, ist ein Strecken der Schnitte mittels Wasser bei etwa 40—45 Grad unumgänglich. (Versuche mit 50%igem Alkohol zu strecken, verliefen resultatlos.) Bei diesem Strecken mit Wasser nun kommt es — besonders bei großem Glykogengehalt — häufig vor, daß ein Teil des Glykogens in Lösung geht und sich eventuell später auf dem Objektträger niederschlägt, wo es dann durch Jodproben und Bestsche Carminfärbung im Verein mit Löslichkeit in Speichel leicht nachzuweisen ist. Man muß daher, wenn man in der angegebenen Weise verfährt, negativen Befund von Glykogen in den Schnitten mit Vorsicht beurteilen. — Bezüglich der Färbung kam alles darauf an, der Bestschen Glykogenfärbung, die außer Glykogen nach Best (1906) nur noch die Kerne, Körnelung der Mastzellen, die Corpora amylacea und einige wenige hier nicht in Betracht kommende Gewebsbestandteile färbt, eine Kernfärbung vorauszuschicken. Da auch hier zunächst nur die alkoholischen Farbstofflösungen in Betracht kommen, wurde Hämacalcium nach P. Mayer versucht. Es stellte sich jedoch heraus, daß in Verbindung mit Bests Carminfärbung die Hämacalciumfärbung nicht beständig ist. Nach einigen Monaten war die Hämacalciumfärbung in den Präparaten verschwunden und an ihre Stelle diffuse Rotfärbung getreten, so daß Glykogen, Gewebe und Kerne kaum voneinander zu unterscheiden waren. Es wurde dann Eisenhämatoxylin nach Weigert-Heidenhain versucht, das aber in Verbindung mit Best nicht befriedigte. Schließlich wurde in der Weise verfahren, daß in konzentriertem Delafieldschem Hämatoxylin 1—$1^1/_2$ Minuten gefärbt, hierauf in 50%igem Alkohol ausgewaschen wurde. Es resultiert eine gute Chromatinfärbung, ohne daß Lösungserscheinungen des Glykogens —

wie sich durch Kontrollfärbungen nur mit Bests Carmin feststellen ließ — zur Beobachtung kamen. Die Erscheinung, daß in der nur etwa 21% Alkohol (einschließlich Methylalkohol, durch den Glykogen ebenfalls gefällt wird) enthaltenden konzentrierten Delafield-Lösung das Glykogen anscheinend nicht gelöst wird, findet vielleicht darin seine Erklärung, daß das Glykogen, das normalerweise durch Ammonium- und Natriumsulfat aussalzbar ist, in der konzentrierten Ammoniakalaunlösung des Delafieldschen Farbgemisches nicht in Lösung gehen kann. Man umgeht so die von Arnold (1909a) vorgeschlagenen, übrigens nach eignen Erfahrungen sehr brauchbare, doch immerhin etwas umständliche Methode, die durch Paraffin eingebetteten Schnitte nach Paraffinextraktion mit einer dünnen Celloidinschicht zu überziehen und dann in Delafield zu färben. Auch die von Mayer (1909) jüngst angegebene Färbung des Glykogens mit Gallustinte habe ich versucht. Ich ließ mir die Substanz von Grübler u. Hollborn unter Bezugnahme auf Mayers Angaben kommen, konnte aber damit zu keinem Resultat gelangen. — Für spezielle Zwecke erwiesen sich als sehr brauchbare zum Teil vorzügliche Resultate liefernde Färbungen: die Mallorysche Bindegewebsfärbung, Magenta-Pikroindigcarmin, Weigert-Heidenhains Hämatoxylin, Bendas Mitochondrienfärbung, Ehrlich-Biondi-Heidenhains Gemisch u.a.m. Auf einige spezielle Technik wird noch bei den einzelnen Kapiteln einzugehen sein.

Wenige Worte noch über die Technik der Mikroaufnahmen; zur Verwendung gelangten die Lumièreschen Autochromplatten. Als Lichtquelle diente eine starke Bogenlampe, als Kompensationsfilter das von Lumière für Kopieren von Autochromplatten auf solche bei Magnesiumlicht in den Handel gebrachte Gelbfilter, das, wie durch eine Reihe von Versuchen festgestellt wurde, auch bei Benutzung von Bogenlicht durchaus farbenrichtige Bilder lieferte. Die Expositionsdauer betrug für Aufnahmen mit Ölimmersion 5 bis 15 Sekunden, mit Trockensystemen 1 bis 5 Sekunden. Die Entwicklung und weitere Behandlung erfolgte in der von Lumière angegebenen Weise.

An dieser Stelle seien mir noch einige Worte über die Bedingungen der Fixierung für *Ascaris* gestattet. Alle *Ascaris*-Untersucher geben übereinstimmend an, daß selbst bei gleicher Anwendung ein und desselben Fixierungsmittels das Resultat der Fixierung sehr verschieden ausfällt. Diese eigentümliche Tatsache findet vielleicht seine Erklärung in Paulis Kolloidchemischen Untersuchungen am Eiweiß (1908). Pauli fand, daß durch Zusatz von Salz- oder Zuckerlösungen zu Eiweißlösungen die Koagulationsfähigkeit der letzteren gegenüber Alkohol, Hitze usw. be-

deutend herabgesetzt wurde. Es liegt auf der Hand, daß ähnliche Verhältnisse bei *Ascaris* durch ihren hohen Glykogen- bzw. Zuckergehalt ebenfalls realisiert sein müssen, und daher die Koagulationsfähigkeit des Körpereiweißes und damit die Bedingungen für gute Fixierung herabgesetzt werden. Der wechselnde Glykogen- bzw. Zuckergehalt der Tiere würde darnach also einen verschiedenen Ausfall der Fixierung bei gleichem Mittel bewirken, woraus sich als praktische Regel ergibt, die Tiere vor dem Fixieren ein bis zwei Tage hungern zu lassen und dadurch ihren Kohlehydratgehalt herabzusetzen. In der Tat fand ich, daß in der Regel bei geringerem Glykogengehalt das Resultat der Fixierung besser war, als bei reichlichem.

B. Spezielle Stoffwechselmorphologie bei Ascaris.

I. Das Glykogen.

a) Beschreibender Teil.

aa) Das Glykogen beim gut ernährten Tier.

Wir wollen zunächst die Morphologie des Glykogens bei gutem Ernährungszustand betrachten und zwar sollen dabei die einzelnen Organsysteme besonders behandelt werden, nachdem jeweils eine Schilderung des Baues des betreffenden Organs vorausgegangen ist.

1. Oesophagus.

Hinsichtlich des Baues des Oesophagus können wir uns kurz fassen, da derselbe von Goldschmidt (1905) zurückgehend zum Teil auf Schneider (1902) und Loos (1896) eine eingehende Darstellung gefunden hat. Von den uns hier interessierenden Zellelementen, die sich am Aufbau des Oesophagus beteiligen, kommen besonders in Betracht:

1. die Epithelmuskelzellen,
2. Die Drüsenzellen.

Erstere zerfallen nach ihrer Lage in Flächen- und in Kantenzellen. Die Flächenzellen liegen den Flächen des im kontrahierten Zustand ein gleichseitig dreieckiges Prisma bildenden Oesophaguslumens auf. Ihre Zahl beträgt nach Loos 24, so daß also auf jede Seite des Prismas acht hintereinander liegende Flächenzellen entfallen. Die Kantenzellen verteilen sich auf die Kanten des Prismas und sind nach Loos in Sechszahl vorhanden, die in gleicher Weise zu je zwei hintereinander liegen. Diese Zahlenangaben Loos' nachzuprüfen, lag kein Grund vor, doch scheint die Zahl der Kantenzellen um drei zu niedrig angegeben. Zellgrenzen

sind zwischen den einzelnen Zellen nicht mehr vorhanden; ihre Zahl läßt sich nur aus der Zahl der Kerne erschließen. In bezug auf die Bedeutung dieser Zellen stimme ich mit den früheren Autoren (Loos, Schneider, Goldschmidt) darin überein, daß die Flächenzellen vorzüglich als Bildner der radiär angeordneten Myofibrillen, die Kantenzellen als Bildner der stützenden Elemente aufzufassen sind. Immerhin muß damit gerechnet werden, daß auch die Kantenzellen kontraktile Elemente liefern können, wie wir später sehen werden. Mit Bezug auf die Muskelfibrillen stimme ich mit Goldschmidt völlig darin überein, daß von einer Querstreifung

Textfig. A.

Mündung des sogenannten »Drüsenausführgangs« im vorderen Drittel des Oesophagus.

derselben, wie sie von K. C. Schneider (1902) angegeben wird, keine Spur zu erkennen ist. Der Goldschmidtschen Interpretation der Schneiderschen Angaben, daß die angebliche Querstreifung durch zwischen den einzelnen Muskelfibrillen in Längsreihen angeordnete Waben vorgetäuscht wird, kann daher nur beigepflichtet werden. — Das komplizierte Gerüst, das Muskelfibrillen im Verein mit Stützfibrillen, -fasern und -schläuchen (letztere an den Kanten gelegen) und einer, der äußeren Grenzlamelle annähernd parallel laufenden gefensterten Membran bilden, läßt den Oesophagus am besten mit einem Rohr vergleichen, dessen dicke Wandung nicht massiv, sondern von einem lichten Balken- und Bälkchenwerk durchsetzt ist. Dazwischen liegen die Ausläufer der im hintersten Abschnitt des Oesophagus dicht vor dem Übergang in das

Cylinderepithel des Darmes liegenden drei großen sogenannten »Drüsenzellen« (vgl. Abb. 32). Die Ausläufer dieser sogenannten Drüsenzellen erstrecken sich in Gestalt von lacunären, mit Gerinnsel angefüllten, einer eignen Wandung entbehrenden Räumen und Verästelungen durch den Oesophagus bis in die Gegend zwischen erstem und zweitem »Satz« der jeweils annähernd in einer Vertikalebene angeordneten drei korrespondierenden Flächenzellen. Natürlich finden sich diese Lacunen auch in der Umgebung der »Flächenkerne«, wie die Kerne der Flächenzellen kurz heißen mögen, wie auch Goldschmidt (1905) angibt. Im Gegensatz zu diesem Autor, der sie für prinzipiell verschieden hielt von den Verästelungen der »Drüsenzellen«, muß aber festgestellt werden, daß diese Lacunen nichts andres sind als eben solche Verästelungen jener. Es fragt sich nun, ob wir es bei diesen Elementen überhaupt mit Drüsenzellen zu tun haben, was aus zweierlei Gründen verneint werden muß: 1. entbehren diese »Drüsenzellen« — deren Grenzen übrigens ebenso wie bei den übrigen Oesophaguszellen nicht mehr sichtbar sind, — eines eignen Ausführungsgangs. Wohl findet sich im vordersten Drittel des Oesophagus eine Kommunikation des Lumens mit den lacunären Räumen (vgl. Textfig. A), die jedoch, wie mir scheint, nicht als Drüsenausführgang bezeichnet werden darf; 2. zeigen diese »Drüsen« keinerlei funktionelle Strukturzustände, wie man das doch von Drüsen fordern müßte. Vielleicht könnten diese Zellen als Bildner eines Teiles der stützenden Elemente des Oesophagus aufgefaßt werden, wobei es dahingestellt sein mag, ob sich die von K. C. Schneider (1902) und Goldschmidt (1905) geschilderten Stützschläuche der Kanten, oder die gefensterte Membran der Flächen, oder beide Bildungen von diesen Zellen ableiten. Die drüsige Natur jener Zellen, deren Kerne übrigens eine auffallende Ähnlichkeit mit den Kernen der drei Bildungszellen des Exkretionskanals aufweisen, muß ich jedenfalls in Abrede stellen, im Gegensatz zu Jägerskiöld (1894) und Loos (1896), denen allerdings gerade *Ascaris lumbricoides* anscheinend nicht vorgelegen hat. Das Vorhandensein solcher Drüsen läßt sich auch nicht als physiologische Notwendigkeit postulieren, wie sich aus den eigentümlichen physiologischen Verhältnissen ergibt, wie wir noch sehen werden. Über die Natur des die lacunären Räume erfüllenden Gerinnsels vermag auch ich keine näheren Angaben zu machen. — Es bleibt nur noch kurz der Bau der uns hier interessierenden Zellkerne zu besprechen, besonders der Flächenkerne. Von dem Plasma der Kanten- und Flächenzellen ist meist nur wenig erhalten, das sich dann um den Kern zusammendrängt. Dicht um den Kern ist das Plasma meist zu einer besonderen konzentrisch angeordneten Zone verdichtet (Fig. 6 u. 48, Photos 11

u. 13), die Goldschmidt (1905) ebenfalls bespricht. Doch kann diesem Autor bezüglich des wabigen Aufbaues dieser Zone nicht beigepflichtet werden. Dieselbe scheint vielmehr durch eine äußerst feinfädige Plasmabeschaffenheit bedingt. Auch in bezug auf das Tinktionsvermögen dieser Zone muß betont werden, daß dieselbe durchaus nicht immer ein stärkeres Färbevermögen besitzt als das Plasma (Goldschmidt 1905), vielmehr häufig bedeutend lichter tingiert ist als dieses, was aber selbstredend nur für die Goldschmidtsche Auffassung von der Bedeutung dieser Zone als Vermittler der stofflichen Wechselbeziehungen zwischen Kern und Plasma und des dadurch bedingten verschiedenartigen tinktoriellen Verhaltens spricht.

Wir wenden uns nunmehr zur Besprechung der Verteilung des Glykogens im Oesophagus. Dabei muß zunächst betont werden, daß Zellkerne ebenso wie Nervenfasern sich ausnahmslos als frei von Glykogen erwiesen. Als Hauptstapelplatz dient das Plasma der Bildungszellen, sowie die zwischen den einzelnen Muskelfibrillen befindlichen Wabenreihen. Was die Form der Glykogenablagerung im Oesophagus anlangt, sei bemerkt, daß es hier gewöhnlich diffus verteilt ist. Nur im Plasma der Bildungszellen finden sich gröbere Körner und Schollen (Fig. 6, 7, 29, 30 u. 60). Das Gerinnsel der lacunären Räume wird zwar auch manchmal bei Färbung mit Best rot gefärbt, verliert diese Färbung aber nach Speichelbehandlung nicht und gibt auch keine deutliche Jodreaktion, so daß wir es nicht als Glykogen ansprechen können. Es handelt sich nun darum, festzustellen, woher der Oesophagus den Zucker zum Aufbau des Glykogens bezieht. Da das Lumen in ganzer Länge von einer Cuticula ausgekleidet wird, die sich wie bereits erwähnt, nur an einer Stelle trichterförmig einsenkt, um hier mit den lacunären Räumen in Verbindung zu treten, so muß der Oesophagus selbst als unfähig zur Resorption betrachtet werden. Der Zuckertransport in dies Organ muß vielmehr auf gleichem Wege wie für die Körpermuskelzellen — wie wir später sehen werden — mit Hilfe des »Isolationsgewebes« vor sich gehen. Der Durchtritt des Zuckers in den Oesophagus selbst erfolgt dann durch die relativ dünne Grenzlamelle. Es wäre auch denkbar, daß der Zucker ohne das Isolationsgewebe zu passieren, direkt vom Darmepithel nach vorn zu in den Oesophagus geleitet würde. In jedem Falle aber erfolgt die Bildung des Glykogens im Oesophagus selbst. Da nun der Oesophagus mit dem Excretionssystem nicht in Verbindung steht, so muß eine besondere Ableitungseinrichtung für die bei der Spaltung des Glykogens entstehende Valeriansäure anzunehmen sein. Diese dürfte durch die lacunären Räume in Verbindung mit jener oben erwähnten trichterförmigen Einsenkung

der inneren cutienlaren Oesophagusauskleidung gegeben sein, die an der tiefsten Stelle, der Spitze des Trichters, die Cutienla verliert und so eine Kommunikation mit dem Lumen des Oesophagus bedingt.

2. Darm.

Bezüglich des Baues des Darmepithels können wir uns ebenfalls auf frühere Schilderungen beziehen (K. C. Schneider 1902, Goldschmidt 1905, Ehrlich 1909). Die cylindrischen Zellen, aus denen das Darmrohr sich aufbaut, sind in ganzer Darmlänge sehr gleichförmig gebaut. Das Plasma der Zellen, das im allgemeinen einen wabigen Bau nicht sehr deutlich erkennen läßt, ist von Stützfibrillen durchzogen, auf die weiter unten noch einzugehen sein wird. Basal, der den Darm vom Isolationsgewebe (Goldschmidt 1905/1906) trennenden cutienlaren Grenzlamelle dicht angelagert, liegt der ein oder mehrere Nucleolen enthaltende Kern. In diese cutienlare Grenzlamelle können nach Leydig (1885), van Bömmel (1895) und Goldschmidt basale Fortsätze der Epithelzellen dringen, diese sogar ganz durchsetzen. Ersteres Verhalten habe ich, wenn auch sehr selten, ebenfalls beobachtet (Fig. 14), letzteres nie. Dagegen konnte ich in einigen Fällen eine rostartige Durchbrechung der Cuticula (Fig. 38) beobachten. Häufig kann aber dies Verhalten nicht sein. Am distalen, dem Lumen zugekehrten Ende tragen die Zellen einen einer Limitans aufsitzenden Stäbchensaum (Fig. 11—13, 40, 41, 49). Als inkonstante Zellbestandteile sind noch zu erwähnen stark lichtbrechende Körnchen von gelblicher Farbe, die K. C. Schneider (1902), Goldschmidt (1905) und Ehrlich (1909) ebenfalls beschreiben, so wie jene funktionellen Strukturen, die Goldschmidt (1905) gleichfalls unter den Begriff des Chromidialapparats faßte. — Wenn wir uns nun dem Verhalten des Glykogens im Darmepithel zuwenden, so müssen zunächst zwei falsche Literaturangaben richtig gestellt werden. Brault und Loeper (1904) geben an, daß sie den Darm stets frei von Glykogen gefunden haben. Was man aber von den Angaben dieser Autoren zu halten hat, geht aus ihren Mitteilungen über die Histologie von *Ascaris* hervor, von denen die sich auf den Darm beziehenden als Stichprobe hier folgen mögen: «Il y a peu de chose à dire du tube digestif dont les trois couches chitineuse, épithéliale et musculaire sont absolument dépourvues de glycogène!» —

Die zweite diesbezügliche Literaturangabe von Busch (1905), der im Gegensatz zu Brault und Loeper stets Glykogen im Darmepithel fand, ist in dieser Allgemeinheit ebenso unrichtig wie jene. Natürlich hängt das Vorhandensein oder Nichtvorhandensein von Glykogen im Darmepithel ganz vom Ernährungszustand des Tieres ab. Man kann alle Über-

gänge von gänzlichem Mangel bis zu reichlicher Anhäufung von Glykogen im Darmepithel feststellen. Die Form, in der das Glykogen in den Darmzellen abgelagert ist, richtet sich sehr nach der Menge. Bei starker Anhäufung finden wir es meist in Form kleinerer und größerer Schollen (Fig. 12, 13), bei geringeren Mengen mehr fasrig, Stützfibrillen adhärierend (Fig. 14), so daß es dann in Form feinster Stränge erscheint. Doch verteilt sich das Glykogen niemals gleichmäßig über die ganze Zelle. So bleibt der auf dem Stäbchensaum folgende, etwa ein Siebentel der ganzen Zelle ausmachende Teil stets frei von Glykogen, ebenso meist der zwischen Kern und Grenzlamelle gelegene Abschnitt, während der mittlere Teil stets die stärkste Glykogenablagerung zeigt (Fig. 12, 13, Photo 7). Frei von Glykogen fand ich außerdem stets die Grenzlamelle selbst, den Stäbchensaum und den Kern. Letzteres im Gegensatz zu Ehrlich (1909), der ein Vorkommen von Glykogen im Kern beschreibt und abbildet. Auf die Frage, ob Glykogen im Kern vorkommt oder nicht, müssen wir noch weiter unten eingehen. Hier möge lediglich erwähnt werden, daß ich mich zwar an Hand des von Herrn Dr. Ehrlich freundlichst zur Verfügung gestellten Originalpräparats von der Richtigkeit seiner Figur (Taf. IV, Fig. 16) überzeugen konnte, daß mir jedoch der Nachweis, daß es sich hier wirklich um Glykogen handelt, nicht mit genügender Schärfe erbracht scheint. Das mit Delafield gefärbte Präparat zeigt im Plasma der Zellen nirgends Glykogenfärbung; nur in einer kleinen Anzahl von Kernen findet sich der von Ehrlich abgebildete rotgefärbte Körper. Da liegt jedenfalls der Gedanke sehr nahe, daß bei der Delafield-Färbung nicht mit genügender Vorsicht vorgegangen wurde, um Lösungserscheinungen des Glykogens zu vermeiden. Außerdem müßte in solch zweifelhaften Fällen noch auf Jod- und Speichelreaktion geprüft werden. Erst bei positivem Ausfall beider — Ehrlich hat nur die Speichelreaktion angestellt, die allerdings positiv ausfiel — kann der Beweis, daß Glykogen vorliegt, als erbracht gelten.

Wenden wir uns nunmehr zu der Art und Weise, wie das Glykogen in die Darmepithelzellen gelangt, so haben wir bereits gesehen, daß sich im Stäbchensaum niemals Glykogen findet. Daraus folgt, daß das Glykogen erst innerhalb der Zellen gebildet wird. Man muß also annehmen, daß die Kohlehydrate im Darmlumen entweder bereits als in Wasser leicht lösliche Monosaccharide, vor allem Dextrose, vorhanden sind, oder durch saccharifizierende Fermente in solche zunächst übergeführt werden. Die Dextroselösung wird dann mit Hilfe des Stäbchensaums von den Darmzellen aufgenommen, wobei dem Stäbchensaum offenbar eine doppelte Funktion beizumessen ist. Einmal dürfte er infolge seiner großen

Oberfläche ähnlich wie Platinmoor als Katalysator wirken, dann aber muß man sich wohl vorstellen, daß die Zuckerlösung durch die feinen Stäbchen mittels Kapillarattraktion in die Zellen befördert wird. Wir werden weiter unten sehen, warum gerade für die Aufnahme von Zuckerlösungen durch die Zelle eine derartige Einrichtung zweckmäßig erscheint. — Haben wir nunmehr das Eindringen des Zuckers in die Zelle verfolgt, so fragt es sich, ob wir die Synthese des Glykogens aus der aufgenommenen Dextrose sichtbar machen können. Es ist klar, daß das erst von dem Punkt an geschehen könnte, auf welchem der Polymerisationsvorgang mindestens bis zur Bildung von Erythrodextrin vorgeschritten ist. Denn erst dieser Körper wird — wenigstens teilweise — nach Röhmann (1906) bereits durch 44%igen Alkohol gefällt, also der Konservierung durch Carnoys Gemisch zugänglich gemacht. Ich glaube nun in einigen Fällen in der Tat den Aufbau des Glykogens beobachtet zu haben. Man könnte zwar in diesen Fällen mit einiger Berechtigung auch daran denken, daß es sich dabei um Abbau des Glykogens handelt, es wäre dies aber für uns von keinerlei Bedeutung, da dieser in der gleichen Bahn nur rückläufig, nämlich über die verschiedenen Dextrine zu Maltose und schließlich zur Dextrose sich vollzieht. Wir müssen aber vorerst nochmals auf jene stark lichtbrechenden Körnchen zurückkommen, die K. C. Schneider (1902) beschreibt und sie — wohl fälschlich — als Excretkörner deutet, die Goldschmidt (1905) erwähnt und sie für Nahrungströpfchen hält, »nicht aber für Secrete, etwa Zymogen, da die Zellen des *Ascaris*-Darms ihrem Bau nach vorwiegend resorbierend sind« und die Ehrlich (1909) eingehend untersucht hat, um zu dem Resultat zu kommen, daß sie so weit »zu Haufen vereinigt in Vacuolen beobachtet wurden, ihre Abstammung von zerfallenen Zelleinschlüssen (es handelt sich um die, bei dem von Ehrlich als 'cytoplasmatischer Degeneration' beschriebenen Prozeß auftretenden Zelleinschlüsse. D. Ref.). als sicher gelten kann.« In verschiedenen Fällen aber versagt, wie Ehrlich selbst zugibt, diese Erklärung. Trotzdem hält Ehrlich die Körnchen aus dem gleichen Grunde wie Goldschmidt, ferner weil sie in ihrem Vorkommen viel zu selten seien, nicht für Secretkörner. Letztere Angabe trifft nach meinen Beobachtungen nicht zu, da mit Ausnahme der »Eckzellen« (Ehrlich 1909) des Darmes, die sich übrigens auch fast ausnahmslos als glykogenfrei erweisen, man nur selten Darmzellen trifft, die die Körnchen nicht besitzen. Zwar sind die *Ascaris*-Darmzellen ihrem Bau nach nicht als Drüsenzellen charakterisiert, wir haben aber bereits gesehen, daß sie es — in diesem Fall also genau so wie die Leberzellen des Wirbeltiers — vermögen, aus Zucker Glykogen zu bilden. Es kann nach den Erfahrungen

am höheren Tier (vgl. Abderhalden 1909) kein Zweifel darüber bestehen, daß dies mit Hilfe von Fermenten geschieht und damit ist selbstverständlich die Voraussetzung für eventuelle Bildung von Zymogenkörnchen gegeben. Es scheinen nun in der Tat Anzeichen dafür vorzuliegen, daß jene Körnchen beim Aufbau des Glykogens im Darmepithel eine wesentliche Rolle spielen. Zunächst trifft man die Körnchen nur in der Zone, innerhalb welcher auch die Glykogenablagerung erfolgt (Fig. 11, 12, 14). Dann aber lassen sich auch direkte Beziehungen der Körnchen zu den Glykogenschollen und Körnern selbst nachweisen. Fig. 11 zeigt ein solches Verhalten, das in einer Reihe von Fällen beobachtet werden konnte. Die charakteristischen Lagebeziehungen beider Zellbestandteile sind deutlich zu erkennen, ebenso die Neigung der Körnchen Glykogenreaktion anzunehmen. Es fragt sich nun, ob wir es bei den Körnchen mit einer Zwischenstufe im Glykogenauf- oder abbau zu tun haben. Dann müßten die Körnchen in Wasser löslich sein oder doch zum mindesten beim Erwärmen mit verdünnter Mineralsäure invertiert werden. Beides ist nicht der Fall, wovon ich mich in einer Reihe von Versuchen überzeugt habe. Da auch eine fettige Natur nach ihrer Unlöslichkeit in Fett lösenden Agenzien (Xylol, Chloroform, Äther) ausgeschlossen ist, bleibt keine andere Möglichkeit, als die Körnchen ihrer Natur nach als eiweißartige Verbindung zu betrachten. Mit Ehrlich (1909) stimme ich aber vollkommen überein, daß die Körnchen nicht als Albumose oder Peptongranula aufzufassen sind. Das geht auch ohne weiteres aus ihrer großen Resistenz gegen verdauende Agenzien (Pepsin und Trypsin) hervor. Es scheint mir daher wahrscheinlich, daß die Körnchen als Zymogengranula anzusprechen sind, die im Zusammenhang mit dem Auf- und Abbau des Glykogens stehen, umsomehr als ich auch wiederholt Gelegenheit hatte, in den Seitenlinien und der Subcuticula, die, wie wir gleich sehen werden, ebenfalls reichlich Glykogen enthalten, ähnliche gelbliche Körnchen in großen Mengen zu beobachten. — Auf die Frage nach dem »Chromidialapparat« der Darmepithelzellen soll erst weiter unten eingegangen werden.

3. Muskulatur.

aaa) Die Körpermuskelzellen.

Die großen Körpermuskelzellen von *Ascaris* haben in den letzten Jahren verschiedentlich eine eingehende Darstellung gefunden, so durch K. C. Schneider (1902), Goldschmidt (1905, 1909/10) und Bilek (1909 u. 1910b). Auf die Kontroverse Goldschmidt-Bilek, bezüglich des Chromidialapparats dieser Zellen, werden wir weiter unten einzugehen haben. Hier sollen nur die Befunde bezüglich der übrigen histologischen

Verhältnisse erörtert werden. Die *Ascaris*-Körpermuskelzelle, die etwa die Gestalt einer Spindel hat, besteht außen aus der kontraktilen »Rinde« und enthält im Innern das Mark, das in der Mitte der längsgestreckten Zelle bruchsackartig hervorragend den Markbeutel bildet. Im Markbeutel liegt der Kern. Die kontraktile Rinde besteht aus übereinander liegenden Leisten von kontraktiler Substanz und plasmatischer »Kittsubstanz«. In diesen Leisten liegen die Muskel- bzw. Stützfibrillen in der Weise, wie dies Apathy (1893), Bütschli (1892), K. C. Schneider (1902) und Goldschmidt (1909/10) geschildert haben. Über den Bau des Sarcoplasmas (Marks) des Markbeutels gehen die Angaben der einzelnen Autoren weit auseinander. Während Goldschmidt mit Apathy und Bütschli dem Plasma eine Wabenstruktur zuschreibt, bestreitet dies Bilek, indem er das Plasma »nach guter Fixierung« als hyaline, »völlig homogene Masse« bezeichnet. Beide Darstellungen sind nach meinen Beobachtungen in dieser Allgemeinheit unrichtig. Zunächst muß zwischen den Körpermuskelzellen der Kopf- und Darmregion unterschieden werden. An ersteren habe ich eine Wabenstruktur nicht unterscheiden können. Vielmehr erscheint das Sarcoplasma dieser Zellen nach Fixierung stets in granulärer Form (Fig. 22, 27). Anders verhalten sich die Körpermuskelzellen des mittleren Körperabschnitts. Hier müssen die Angaben von Apathy, Bütschli und Goldschmidt einerseits bestätigt werden, insofern der Kern umgeben ist »von einer Zone dichteren Plasmas von sehr feinschaumiger Beschaffenheit, die peripher in radiäre Zipfel sich auszieht«. In einiger Entfernung vom Kern aber mit Verschwinden eben jener Zipfel verliert das Plasma seine Wabenstruktur, worin ich mit Bilek übereinstimme. Es kann nunmehr als »hyaline Masse« (Bilek 1909) völlig homogen erscheinen, wobei freilich die »hyaline« Beschaffenheit weniger vom Plasma, als von dem ihm eingelagerten Glykogen herrührt, oder aber auch die verschiedenartigsten kleineren oder größeren »Durchlöcherungen« aufweisen, was aber nichts mit schlechter Fixierung des Plasmas zu tun hat, wie Bilek meint, wie wir gleich sehen werden. — Wir müssen nun noch kurz auf das Verhalten der Fibrillen eingehen, da auch hier zwischen Goldschmidt und Bilek erhebliche Differenzen bestehen. In allen wesentlichen Punkten muß ich dabei die Angaben Goldschmidts bestätigen, nur in einem bin ich zu einer etwas andern Anschauung als Goldschmidt gelangt. Es betrifft das das Verhalten der Skeletfibrillen des Markbeutels in der Umgebung des Kernes. Die Skeletfibrillen verlaufen hier innerhalb der Plasmazüge, die wie oben erwähnt, von dem feinschaumig wabigen Palsma in der Umgebung des Kernes radiär ausstrahlen, etwa in der Weise, wie dies Bilek (1909, 1910b) abbildet. Nach

diesen Abbildungen zu urteilen, kann ich Goldschmidts Meinung, daß Bilek die Fibrillen garnicht gesehen, viel mehr die Plasmazüge für solche gehalten hat, nicht beipflichten. Bileks Abbildungen stimmen im wesentlichen mit meinen Fig. 19 und 20 und Photos 2 und 4, die die Verhältnisse aufs deutlichste zeigen, überein. In der Umgebung des Kernes »strahlen« die Fibrillen nun nicht pinselförmig in das feinschaumige Plasma ein (Goldschmidt 1909/10), sondern umgeben den Kern mit einem Fibrillenkörbchen, ähnlich wie Bilek dies schildert, nachdem allerdings vorher die in den Plasmazügen verlaufenden dickeren Fibrillen sich »pinselförmig« aufgesplittert haben (Photo 4). Eine wesentliche Differenz bezüglich des letzteren Punktes scheint in beiden Auffassungen aber auch nicht zu liegen, da nach Goldschmidt die Fibrillen um den Kern herum ausstrahlen, indem sie sich vielfach überkreuzen und so den Kern in eine strahlige Haube einhüllen. Die strahlige »Haube« ist eben das Fibrillenkörbchen Bileks. In allen andern Punkten kann ich, soweit untersucht, die Goldschmidtsche Darstellung von dem Verhalten der Skeletfibrillen in den Körpermuskelzellen nur bestätigen, besonders auch bezüglich des Austritts der Fibrillen durch die kontraktile Rinde in die Subcutienla, der auf Photo 5 deutlich zu erkennen ist, worauf ich noch zurückkomme. — Etwas anders, als soeben auseinandergesetzt, verhalten sich die Fibrillen der Körpermuskelzellen der Kopfregion, die von beiden Autoren anscheinend nicht näher untersucht worden sind. Zur Bildung eines typischen Fibrillenkörbchens um den Kern kommt es hier gewöhnlich nicht. Die Fibrillen verlaufen meist in dem peripheren Abschnitt des Markbeutels (Fig. 22 u. 27). — Von der übrigen neueren diesbezüglichen Literatur sei noch als Kuriosum die Angabe Braults und Loepers (1904) erwähnt, wonach die Muskelzellen am Darm inserieren sollen! —

Wir wenden uns nunmehr zur Betrachtung der Glykogenmorphologie. Es zeigt sich, daß das Sarcoplasma der Körpermuskelzellen ein Hauptstapelplatz des Glykogens ist. Der bei weitem größte Teil der Vorräte an Reservekohlehydrat ist hier abgelagert und zwar bei gutem Ernährungszustand in völlig hyaliner Form (Fig. 23, 24, 59). Man kann indessen alle Übergänge finden von homogen-hyaliner Form bis zu den gröbsten »Durchlöcherungen«, was selbstredend auf Lösungserscheinungen des Glykogens zurückzuführen ist, sei es, daß an diesen Stellen Glykogen gerade gespalten wurde, sei es, daß durch Fixierung und Färbung Lösungserscheinungen eingetreten sind. Es liegt daher auf der Hand, daß trotz der allergrößten Durchlöcherung des Markbeutels die Zellen ausgezeichnet fixiert sein können. Die Glykogenanhäufung findet sich in gleich starker

Ausbildung im Sarcoplasma der eigentlichen Muskelspindel (Fig. 23, 24), hier häufig mehr in Form grober Brocken und Schollen auftretend. Von besonderem Interesse ist aber das Verhalten des Glykogens innerhalb der kontraktilen Rinde selbst. Hier findet man in reichlich ernährten Zellen, an denen keinerlei Lösungsprozesse des Glykogens eingetreten sind — was allerdings nicht allzu häufig der Fall ist — das Glykogen angeordnet in Reihen, die parallel dem Plasma- und kontraktilen Leisten verlaufen (Fig. 23, 24). Es ist nun nicht leicht zu entscheiden, in welcher von beiden Leisten die Glykogenkörnchen liegen, da bei distinkter Färbung der kontraktilen Leisten sowie Muskel und Stützfibrillen das Glykogen gelöst wird, umgekehrt bei Darstellung des Glykogens, nicht einmal die einzelnen Leisten, geschweige denn beiderlei Fibrillen differenziert erscheinen. Der Sachverhalt dürfte jedoch folgender sein: Die Glykogenkörnchen liegen auf der Grenze zwischen Plasma und kontraktilen Leisten, keinesfalls jedoch innerhalb der kontraktilen- oder der Stützfibrillen. Sie können jedoch letzteren mantelartig anliegen (Fig. 22). Demnach würde dem von Goldschmidt (1909/10) beschriebenen komplizierten Stützfibrillensystem der *Ascaris*-Körpermuskelzellen außer der Stützfunktion vielleicht noch eine andre Bedeutung beizumessen sein, nämlich die für eine leichte und gleichmäßige Verteilung des Glykogens innerhalb der kontraktilen Rinde zu sorgen, da die Glykogen- bzw. Zuckerlösungen leicht an den Fibrillen adhärieren und so eine leichtere Fortleitung selbst in entferntere Teile erfahren. Daß solche Verhältnisse in den Körpermuskelzellen tatsächlich realisiert sind, davon konnte ich mich in einer großen Zahl von Fällen in Körpermuskelzellen der Kopfregion aus Hungertieren, in denen ein starker Glykogenverbrauch stattgefunden hatte, überzeugen. Einen solchen Fall illustriert Fig. 22. Das Sarcoplasma ist fast glykogenfrei, dagegen ist deutlich zu erkennen, wie das Glykogen an den Fibrillen adhärierend den Markbeutel durchzieht. — Der Kern selbst bleibt stets glykogenfrei, ebenso zeigt selbst in den Fällen, wo das Sarcoplasma mit Glykogen vollgepfropft ist, eine Zone um den Kern etwa von der Breite des Kerndurchmessers eine auffällige Armut an Glykogen, die sich namentlich bei weniger gut ernährten Tieren bis zu völligem Glykogenmangel steigern kann (Fig. 16, 17, 18).

bbb) Dilatator des Chylusdarms.

Bezüglich des Baues der großen Muskelzellen des Schwanzendes muß auf die eingehende Darstellung, die Voltzenlogel (1902) selbst, bzw. auf den von Goldschmidt (1905) gegebenen Auszug jener Untersuchung verwiesen werden, da ich den Angaben Voltzenlogels nichts

von Bedeutung hinzuzufügen habe. Der von zwei Zellen gebildete Dilator des Chylusdarms funktioniert zugleich als Compressor des Ductus ejaculatorius. Der Anordnung der stützenden Elemente dieser Zellen bin ich nicht weiter nachgegangen. Man gewinnt jedoch den Eindruck, daß sich die Stützfibrillen in diesen Zellen ähnlich den Körpermuskelzellen der mittleren Körperregion verhalten, insofern sie den Kern ebenfalls mit einem Fibrillenkörbchen umgeben, wie oben für jene auseinandergesetzt wurde (Fig. 50). Das Glykogen findet sich in diesen Zellen besonders im Sarcoplasma in wechselnder Menge (Fig. 50), auch hier den Kern stets freilassend. — Bezüglich des Baues der

ccc) Spicular- und Bursalmuskulatur

sei ebenfalls auf die oben erwähnten Untersuchungen Voltzenlogels und Goldschmidts, sowie die Monographie Schneiders (1866) verwiesen. Sie bieten hinsichtlich der Glykogenverteilung prinzipiell die gleichen Verhältnisse wie die übrigen Muskeln.

4. Subcuticula.

Bezüglich des Baues der Subcuticula sei auf die Arbeiten von Schneider (1902), Goldschmidt (1905/1906), Martini (1909), Rauther (1907, 1909) und Jägerskiöld (1894) verwiesen, durch die der Bau der Subcuticula genügend bekannt geworden ist, so daß wir uns hier mit der Feststellung der Tatsache, daß auch sie (Photo 10) reichlich Glykogen, besonders in dem den Muskelzellen angrenzenden Teil enthält, begnügen können.

5. Seiten-, Rücken- und Bauchlinien.

Der Körper der Ascariden wird bekanntlich durch zwei in einer Höhe liegende, seitliche, sowie durch je einen dorsalen und ventralen leistenartigen Vorsprung des subcuticularen Gewebes in vier Längsfelder geteilt. Der Aufbau dieser leistenartigen Längswülste ist verschiedentlich Gegenstand der Untersuchung gewesen. In neuerer Zeit, besonders in den Untersuchungen Rauthers und Martinis, vorher in den Arbeiten K. C. Schneiders und Goldschmidts. Bereits K. C. Schneider erkannte, daß der Bau der Seitenwülste kein einheitlicher ist. Zunächst zieht über jedem Seitenebenso wie über Dorsal- und Ventralwulst 1. das syncytiale Gewebe der Subcuticula weg. Dann aber beteiligen sich Zellelemente dieser letzteren am Aufbau der Seitenlinien in den 2. Zellen der Medialreihe, die keilartig bis gegen die Mitte jedes Seitenwulstes vorspringen. Dazu gesellt sich nun noch 3. das eigentliche Grundgewebe der Seitenlinien und 4. der

Excretionskanal. Außer diesen vier Elementen unterschied dann Goldschmidt (1905/1906) noch 5. die Bildungszellen gewisser Stützfibrillen, 6. das excretorische Drüsengewebe und 7. Wanderzellen. Inwieweit diese Einteilung berechtigt ist, werden wir weiter unten sehen. Hier möge nur erwähnt werden, daß Rauther (1909) sich »von einer scharfen Trennung des Grundgewebes von der Subcuticula nicht überzeugen konnte«, während Martini (1909) »keinen zwingenden Grund sieht, das excretorische Drüsengewebe (Goldschmidt) vom übrigen Seitenliniengewebe zu trennen«. Die »Wanderzellen« Goldschmidts konnte dieser Autor nicht beobachten. — Was zunächst die vier erstgenannten Bestandteile betrifft, so stimme ich völlig mit den Angaben K. C. Schneiders und Goldschmidts überein, wobei es mir ziemlich belanglos erscheint, ob das Grundgewebe der Seitenlinien sich scharf von der Subcuticula unterscheiden läßt oder nicht. Die Abstammung dieses Gewebes von der Subcuticula kann keinem Zweifel unterliegen und es ist wohl Geschmackssache, ob man es als einen besonderen Bestandteil aufführen oder aber mit der Subcuticula zu einem einzigen vereinigen will. Hinsichtlich der drei weiteren Zellelemente sei bemerkt, daß das Vorkommen jener Bildungszellen bestimmter gröberer Stützfasern, von denen meist nur die sich durch besondere Größe auszeichnenden Kerne erhalten sind, unzweifelhaft ist, daß ich aber bezüglich der beiden übrigen Bestandteile mehr den Angaben Martinis zuneige. Typische Wanderzellen konnte ich nicht beobachten — womit freilich ihr Nichtvorhandensein nicht erwiesen ist — und auch ich sehe keinen zwingenden Grund, das excretorische Drüsengewebe vom übrigen Seitenliniengewebe abzutrennen, weniger zwar aus morphologischen Gründen, denn auch ich konnte eine solche Sonderung in einer Anzahl von Fällen beobachten, als aus physiologischen, wie gleich zu erläutern sein wird[1]). Wenn wir uns nun der Betrachtung der Glykogenmorphologie

---

[1]) Der Versuch Goldschmidts, eine Trennung der Seitenlinie in mediale Zellreihe, Grund- und excretorisches Gewebe durchzuführen, ist offenbar zum guten Teil auch von entwicklungsgeschichtlichen Überlegungen aus erfolgt. Der Schichtenbau der Nematoden ist ja immer noch nicht klar, da, wenn man die Muskulatur als parietales Mesoderm auffaßt, das viscerale fehlt. Es muß also Ziegler und Goldschmidt von diesem Gesichtspunkt aus beigepflichtet werden, wenn sie die Ansicht vertreten, daß die Nematoden kein Denterocöl, sondern ein Schizocöl besitzen. Aber auch letztere Auffassung stößt auf Schwierigkeiten, durch den von Goldschmidt erbrachten Nachweis, daß die Nematoden kein Cölom besitzen, vielmehr der Raum zwischen Darm, Geschlechtsorganen und Muskulatur von einem Füllgewebe »Isolationsgewebe« (Goldschmidt) erfüllt ist. Goldschmidt ist daher geneigt, die Nematoden in die Nähe der parenchymatösen Würmer zu stellen. Er kommt zu der Auffassung, daß die mediale Zellenreihe der Seitenlinie ectodermalen, Grund- und excretorisches Gewebe dagegen

in den vier Körperlängslinien zuwenden, so sei zunächst bemerkt, daß Dorsal- und Ventrallinie sich durch relative Armut an Glykogen auszeichnen, was seinen Grund darin hat, daß ihre Hauptmasse durch die in ihnen verlaufende Nervenstämme, die ausnahmslos frei von Glykogen bleiben, eingenommen wird. Anders die Seitenlinien. Sie bilden, wenn man von den Markbeuteln der Muskelzellen absieht, das Hauptglykogendepot des *Ascaris*-Körpers. Bei gut ernährten Tieren ist das gesamte Gewebe der Seitenlinien mit Glykogen vollgepfropft, dagegen erweist sich ohne Ausnahme der eigentliche Excretionskanal frei von Glykogen (Fig. 59, Photo 6). Ebenso meistens — nicht immer — eine konzentrisch um den Excretionskanal gelegene Plasmazone (s. Goldschmidt [1905/1906] Fig. 9), die der äußeren Wand der cuticularen Theka des Kanals nach außen aufliegt. Besonders auffallende Bilder der Glykogenverteilung findet man häufig in dem Seitenliniengewebe auf der Höhe des Nervenrings. Das Gewebe der Seitenlinien nimmt hier einen großschaumigen blasigen Charakter an (Fig. 33). In den Knotenpunkten dieses Wabenwerks findet man bei geringem Glykogengehalt das restliche Glykogen meist in Form von Granula abgelagert (Fig. 33), was zur Entstehung äußerst instruktiver Bilder Veranlassung gibt. Der Vollständigkeit halber sei noch erwähnt, daß selbstverständlich Kerne wie Stützfibrillen ausnahmslos glykogenfrei bleiben.

Die geschilderten Verhältnisse sind geeignet, die Unklarheiten über die Bedeutung der Seitenlinien zu beseitigen. Mit Recht weist Goldschmidt (1905/1906) darauf hin, daß jene konzentrische Plasmaschicht von »glasigem Aussehen« durchaus nicht an excretorisches Drüsengewebe erinnert, daß es ferner merkwürdig erscheinen müsse, daß eine Verlegung der Excretionskanäle aus der Pseudoleibeshöhle in die Seitenlinien erfolgt, was verschiedentlich entwicklungsgeschichtlich beobachtet wurde, wenn die Kanäle die Aufgabe hätten aus der Leibeshöhle Excretstoffe aufzunehmen. Auch die Natur des von Goldschmidt beobachteten homogenen, stark lichtbrechenden glasigen »Secrets« findet nun seine richtige Deutung. Es ist nichts andres als das dem Seitenliniengewebe eingelagerte Glykogen. Die Kanäle der Seitenlinien sind somit keine Excretionskanäle im allgemeinen Sinn, sie haben lediglich die Aufgabe, die durch die Zersetzung des Glykogens gebildete Valeriansäure nach außen zu leiten. Die Spaltung des Glykogens erfolgt zunächst in der konzentrisch

homolog den Körpermuskelzellen mesenchymatischen Ursprung haben. Die übrigen mesenchymatischen Elemente sollen als Parenchym den Zwischenraum zwischen den einzelnen Organen erfüllen. Hierzu bemerkt Martini aber mit Recht, daß entwicklungsgeschichtliche Gründe für eine solche Annahme fehlen.

um den Excretionskanal gelegenen Plasmaschicht und schreitet dann in dem Maße des Bedarfs peripher fort. — Nun haben aber nach Goldschmidt (1905/1906) russische Forscher (Metalnikoff, Nassonow und Golowin) die Ansicht vertreten, daß die Seitenkanäle deshalb als Excretionsorgane aufzufassen seien, weil Farbstoffe wie carminsaures Ammoniak, Neutralrot usw. sowie Froschblut, das in die Leibeshöhle injiziert worden war, durch die Seitenkanäle wieder ausgeschieden wurde. Da die russisch geschriebenen Originalarbeiten mir nicht vorlagen, muß ich mich an die Goldschmidtsche Darstellung (1905/1906) derselben halten. Darnach scheinen aber die Resultate der russischen Forscher nicht einwandfrei. Zunächst hat Metalnikoff überhaupt nur in zwei Fällen ein noch dazu recht problematisches positives Resultat mit carminsaurem Ammoniak erhalten. Nassonow, der Froschblut injizierte, fand dann »in der Nähe der Seitengefäße im Seitenliniengewebe eine stark lichtbrechende Materie, die in der Richtung der Gefäße wanderte. Schließlich fand sie sich in den Gefäßen selbst«. Dazu ist zu bemerken, daß der Nachweis fehlt, daß jene stark lichtbrechende Materie (wahrscheinlich Glykogen), die in der Richtung der Gefäße wandert, aus dem injizierten Froschblut stammt. — Golowin findet schließlich, daß, so lange die Tiere leben (von mir gesperrt) injizierte Farbstoffe nicht in die Seitenkanäle gelangen, weil die Farbe ungelöst in der Leibeshöhle liegen bleibt, oder aber in ihre Leucobase umgewandelt wird (?) und sich so dem Nachweis entzieht. Dagegen gelang ihm angeblich der Nachweis der excretorischen Funktion der Seitenkanäle mit triphenylpararos-anilintrisulfosaurem Dimethyldiamidotoluphenacin, wobei freilich nichts darüber erwähnt ist, ob am lebenden oder verendeten Tier. Ich kann demnach den Nachweis, daß die Seitenkanäle excretorische Funktionen im gedachten Sinne besitzen, nicht als erbracht betrachten, zumal wir noch weiter unten sehen werden, daß die Beurteilung solcher Farbstoffinjektionsversuche größte Vorsicht erheischt.

6. Zellelemente des Kopfes.

Goldschmidt (1903) beschrieb in seinen »Histologischen Untersuchungen an Nematoden, I« eingehend die Zellelemente des Kopfes bzw. der Lippen von *Ascaris*. Ich sehe von einer Zusammenfassung seiner Ergebnisse, die zu weit führen würde, hier ab, und beschränke mich auf die Bemerkung, daß speziell das eigentliche Lippengewebe, das nach Goldschmidt von einer Anzahl riesiger Zellen, die er als Kolben-, Faser- und Arkadenzellen bezeichnet, sich bei Tieren von gutem Ernährungszustand fast regelmäßig als Glykogen enthaltend erweist, daß in den Nerven-

Stütz- und Geleitzellen Goldschmidts, die Glykogenverteilung dagegen eine sehr wechselnde ist, während Ganglienzellen und Nervenfasern sich, wie überall, so auch hier als frei von Glykogen erweisen.

7. Ovarien.

Die Bildung der Geschlechtsprodukte bei *Ascaris* hat bereits eine ansehnliche Spezialliteratur gezeitigt, auf die einzugehen außerhalb des Rahmens vorliegender Untersuchung liegt. Ebenso hat auch der Bau der Gonadenwandung eine eingehende Schilderung gefunden in den Arbeiten von Schneider (1866) und Domaschko (1905). Wir können uns somit auf wenige Worte beschränken. Der sehr dünne Endabschnitt der weiblichen Gonade enthält die Urgeschlechtszellen, die während der Zeit der Vermehrungs- und Wachstumsperiode bekanntlich einem centralen Plasmastrang, der Rhachis, ansitzen. Die Verbindung mit dieser wird erst kurz vor der Befruchtung, an die sich Schalen- und Richtungskörperbildung anschließt, aufgegeben. Die Wandung des Genitalschlauchs wird von einer einschichtigen Zellenlage gebildet, die außen eine cuticulare Grenzlamelle trägt. Diese Grenzlamelle verdankt ihre Bildung besonderen Zellen, was den bisherigen Untersuchern offenbar entgangen ist. Fig. 25 zeigt eine solche Bildungszelle, deren sich auf einem Schnitt in der Gegend des Uterus oft mehrere finden. Bezüglich Einzelheiten in der Gestalt der Wandungszellen der Gonade sei auf die Arbeit Domaschkos verwiesen. Für unsere Betrachtungen ist nur die Beschaffenheit des den Uterus auskleidenden Zottenepithels von Bedeutung, auf das weiter unten einzugehen sein wird.

Wenn wir nun die Glykogenablagerungen innerhalb des Ovars betrachten, so ergibt sich darüber folgendes: Betrachtet man sehr junge Ovogonien, so zeigt sich, daß zwar das Follikelepithel reichliche Glykogenanhäufungen aufweist (Fig. 1), die Ovogonien selbst aber frei davon sind. Ein etwas weiteres Stadium zeigt Fig. 2. Wandepithel und Ovogonien enthalten hier ungefähr gleich viel Glykogen, jedoch beide Teile weniger als das Wandepithel der früheren Stadien. Die Rhachis bleibt in diesen und in folgenden Stadien frei oder enthält nur Spuren von Glykogen. Fig. 3 endlich zeigt die Verhältnisse gegen Ende der Wachstumsperiode. Die Ovogonien enthalten reichlich Glykogen, innerhalb dessen sich zahlreiche Vacuolen finden, die entweder von fettigen Einschlüssen oder davon herrühren können, daß an diesen Stellen gerade lebhafter Glykogenverbrauch stattgefunden hat. Die Wandepithelzellen dagegen erweisen sich nunmehr als frei von Glykogen. Auch die Wandungszellen des Uterus sind meist glykogenfrei, dagegen stößt man in den oben erwähnten Bil-

dungszellen der cuticularen Grenzlamelle häufig auf Glykogenablagerungen (Fig. 25). Äußerst instruktive Bilder bieten befruchtete Eier in bezug auf die Glykogenverteilung. Das reife Ei eines gut ernährten Tieres ist geradezu überladen mit Glykogen, das das ganze Plasma in Form von kleineren und gröberen Schollen erfüllt. Nach dem Eindringen des Spermatozoon findet regelmäßig um den zerfallenen Glanzkörper eine Lösung des Glykogens statt, so daß der sich auflösende Glanzkörper wie mit einem hellen Hof umgeben, in dem übrigen noch stark glykogenhaltigen Ei liegt (Fig. 5, 43). Diese Ausbildung zeigen sämtliche auf dem gleichen Stadium befindliche Eier. Auffallend ist ferner das Verhältnis zwischen Richtungsspindel und Glykogen. Die Regel ist, daß in unmittelbarer Umgebung der Richtungsspindel sich besonders reichlich Glykogen findet, wie dies Fig. 4, die ebenso wie Fig. 5 aus einem Präparat von *Ascaris megalocephala* stammt, zeigt. Es scheint gerade in der Umgebung der Richtungsspindel keine oder nur eine äußerst geringe Spaltung des Glykogens vor sich zu gehen. Die Richtungsspindel liegt vielmehr in den Glykogenschollen so eingekeilt, daß es fast wundernehmen muß, wie die Richtungskörperbildung glatt von statten gehen kann, wobei man freilich nicht vergessen darf, daß man im Leben mit einem halbflüssigen Zustand des Glykogens rechnen muß, worauf weiter unten noch einzugehen sein wird. — Die Art und Weise, wie das Glykogen bei der Embryonalentwicklung von *Ascaris* verbraucht wird, habe ich nicht verfolgt. Es kann aber wohl kein Zweifel darüber bestehen, daß das Reservekohlehydrat bei der Embryonalentwicklung allmählich verbraucht wird. Dieser Prozeß scheint aber nach den Angaben und Abbildungen Braults und Loepers (1904), die sich im besonderen auf *Taenia* und *Strongylus* beziehen, ziemlich langsam zu verlaufen, da besonders bei letzterem die Embryonen beträchtliche Mengen von Glykogen enthalten. Nun gibt allerdings Marcus (1906) an, daß bei *Ascaris mystax* bereits auf dem Zweizellenstadium eine ganz erhebliche Abnahme des Glykogens festzustellen ist. Ich muß jedoch diese Angabe deswegen als nicht sehr beweiskräftig betrachten, weil, wie Marcus angibt, es sich im untersuchten Fall um einen Schnitt handelt, von dem, da Marcus keine spezielle Fixierung für die Glykogenfärbung angibt, anzunehmen ist, daß er wie seine übrigen Präparate fixiert wurde. Da Marcus aber nicht mit Carnoy oder Alkohol fixierte, hat vor der Glykogenfärbung — die mittels der Jodmethode erfolgte — sicher Lösung des Glykogens stattgefunden, wodurch die geringe Menge, die noch zur Darstellung gebracht wurde, erklärt ist. Die Resultate der wenigen Glykogenreaktionen, die Marcus im übrigen an seinem Objekt (*Ascaris mystax*) angestellt hat, stimmen mit den oben mitgeteilten Befunden bei *Ascaris*

lumbricoides und *megalocephala* völlig überein. Bemerkenswert ist, daß auch er die Rhachis stets frei von Glykogen fand. Das ist deshalb von Bedeutung, weil wir gewohnt sind, in der Rhachis eine Einrichtung zu erblicken, die vorzüglich der Ernährung der Geschlechtszellen dient, was hiernach nicht wahrscheinlich ist. Der Rhachis käme somit mehr stützende Funktionen zu.

8. Hoden.

Bei der Schilderung der uns interessierenden Verhältnisse der männlichen Gonade werden wir ebenfalls die spezielleren Erscheinungen der Reife übergehen. Etwas eingehender müssen wir uns dagegen mit zwei Besonderheiten des Baues der Hodenwandung befassen, die den früheren Untersuchern Schneider (1866) und Domaschko (1905) teils entgangen, teils von ihnen nicht richtig aufgefaßt wurden. Nach Domaschko wird die Wand der männlichen Gonade im Bereich der Keimzone von langgestreckten »Bandzellen« gebildet. Diese nehmen in der Gegend der Reifungszone die Gestalt von »Spindelzellen« an. Im Vas deferens werden diese von cylindrischen Zellen abgelöst, die an ihrem freien Ende »mehrere fadenförmige Zotten« tragen. Im Ductus ejaculatorius endlich haben diese »Zottenzellen« hohen cylindrischen Zellen ohne Zotten Platz gemacht, die im Längsschnitt einen spitzen Winkel mit der cuticularen Grenzlamelle bildend, der Kloake zugeneigt erscheinen. Nach Domaschko sind diese verschiedenen Zellen ein- und derselben Herkunft, gehen ineinander über, was dieser Autor mit verschiedenen Gründen belegt; unter anderm führt er als Beweis für seine Anschauung auch das Auftreten »von plattenzelligen Inseln inmitten der Spindelzellen« an. Nach meinen Beobachtungen verhält es sich mit dieser »Inselbildung« etwas anders. Es findet nämlich 1. an der Stelle, an welcher der Hoden in das Vas deferens, die Spindelzellen also in die Zottenzellen übergehen, nicht nur Inselbildung statt, sondern das ganze Lumen des Vas deferens wird auf eine Länge von 50—100 μ von einem syncytialen, schwamm- oder filterartigen Gewebe ausgefüllt, das nur einige wenige kleinere und größere Durchlöcherungen aufweist, im Querschnitt an ein unregelmäßiges Sieb erinnernd (Fig. 31). Eine sich von der geschilderten Einrichtung in keinem wesentlichen Punkt unterscheidende Inselbildung findet sich nun ebenfalls beim Übergang des Vas deferens in den Ductus ejaculatorius an der Stelle also, an welcher die »Zottenzellen« in die hohen »Cylinderzellen« übergehen. Auch hier liegt ein solcher »Filter« von prinzipiell der gleichen Beschaffenheit (Textfig. B). Zur Topographie dieser »Filter« sei noch bemerkt, daß der erste seiner Lage nach auf dem Querschnitt dadurch leicht

zu erkennen ist, daß in seiner Höhe der Darm noch das gewöhnliche ovale Lumen zeigt, ferner der Hodenschlauch in einer größeren Zahl von Schnitten getroffen wird. Beim zweiten Filter wird der Hoden nicht

Textfig. B.

Schematischer Längsschnitt durch den zweiten »Filter« des Vas deferens an der Stelle liegend, wo das Vas deferens in den Ductus ejaculatorius übergeht.

mehr getroffen, der Darm zeigt das für den Enddarm charakteristische schmale spaltförmige Lumen. In diesen Filtern sind besonders die Lagebeziehungen der Kerne zueinander auffallend. Die Kerne liegen meist zu zweien so dicht aneinander, daß es oft fast unmöglich ist zu entscheiden, ob man es mit zwei Kernen oder mit einem biskuitförmig ausgezogenen

Kern zu tun hat (Fig. 31). Es ist — da Mitosen in keinem einzigen Fall zur Beobachtung kamen — daher schwer zu entscheiden, ob es sich hier um amitotische Kernteilungen oder Kernverschmelzungen handelt. Für die Frage, das Vorkommen von Amitosen betreffend, wäre eine Entscheidung zwar von Bedeutung, ich konnte jedoch auf diese Verhältnisse in diesem Zusammenhang nicht näher eingehen[1]). — Die Bedeutung der beschriebenen Einrichtungen ist wohl die, daß sie nur die reifen Spermatozoen passieren lassen, und so gewissermaßen wie ein Sieb wirken, da, wie sich aus Messungen ergibt, die reifen Spermatozoen ein kleineres Volumen als die Spermatocyten besitzen, außerdem aber auch erstere vermöge ihrer zuckerhutartigen Gestalt und amöboiden Beweglichkeit (Marcus 1906) ein solches Hindernis im Gegensatz zu letzteren leicht überwinden können.

Von besonderem Interesse sind für uns nun noch jene fadenförmigen Fortsätze der Wandzellen des Vas deferens, die Schneider (1866) als »tentakelförmige« Äste beschrieb, über ihre Bedeutung aber ebenso wie Domaschko (1905) nicht ins klare kommen konnte. Die Funktion dieser Bildungen erhellt aus der Verteilung des Glykogens in der männlichen Gonade, der wir uns nunmehr zuwenden wollen. Prinzipielle Unterschiede gegenüber dem Weibchen sind zunächst nicht zu bemerken. Die Urspermatogonien und die Wandungszellen der Gonade verhalten sich bezüglich des Glykogens ebenso wie für die Ovogonien oben auseinandergesetzt. Die jungen Spermatogonien finden wir frei von Glykogen, das Epithel der Hodenwandung indessen zeigt reichliche Anhäufung des Reservestoffs (Photo 7, Fig. 45). Allmählich erfolgt eine Wanderung des Glykogens vom Epithel in die Spermatogonien, so daß es wie beim Ei zu einer Speicherung des Kohlehydrats in den Spermatogonien kommt. Die Speicherung hält sich aber stets in sehr mäßigen, meist minimalen Grenzen. Es werden niemals solch enorme Mengen von Glykogen abgelagert, wie wir das für die Eier gesehen haben. Bereits während der Vermehrungsperiode der Spermatogonien sehen wir die geringen Mengen von Glykogen, die sie enthalten, verschwinden. Zum Teil wird

[1]) Ich möchte aber nicht annehmen, daß es sich im vorliegenden Fall um Amitosen handelt. Die Tatsache, daß die verschiedenen Kerne an Größe verschieden sind, in der Weise, daß einige etwa die doppelte Größe andrer haben, könnte natürlich in beiderlei Sinn gedeutet werden. Der Umstand aber, daß die dicht aneinander liegenden Kerne das Bild des »ruhenden Kernes« bieten, deutet wohl darauf hin, daß es sich hier um Kernverschmelzungen handelt, obwohl freilich Nemilow (1902) Amitosen beschrieb, bei denen keine Konzentration des Chromatins eintrat, die beiden Karyomeren vielmehr die Form des »ruhenden Kernes« bewahrten. (Vgl. auch Nowikoff [1910].)

das Glykogen, wie auch sonst gespalten, zum Teil jedoch wird es durch einen Prozeß der »Ausschwitzung« unverbraucht wieder entfernt. Auf diese Verhältnisse werden wir gleich noch etwas näher eingehen. Im Vas deferens, wo, bedingt durch das große Lumen, ein inniger Kontakt bei der relativ kleinen Zahl von Spermatozoen nicht mehr möglich ist, finden wir nun jene »Zottenzellen« mit den faden- oder tentakelartigen Fortsätzen (Photo 7), die ein besonders instruktives Bild der Glykogenverteilung darbieten. Jeder dieser Fortsätze nämlich stellt ein plasmatisches Rohr vor, dessen Lumen angefüllt ist mit Glykogen (Fig. 15a u. b). Indem diese Fortsätze bis in die Mitte des Lumens des Vas deferens reichen, wird eine ausgiebige Versorgung der Spermatozoen mit Kohlehydrat erreicht, was für diese, die im ausgebildeten Zustande völlig glykogenfrei sind, wie im Gegensatz zu Busch (1905/1906) hier nochmals betont sei, natürlich von größter Bedeutung ist. Diese Einrichtung vertritt also hier gewissermaßen die besonders für manche Würmer beschriebenen Cytophoren, die die Aufgabe haben, die reifen Spermatozoen zu ernähren.

Es war selbstverständlich von Wichtigkeit, die Spermatozoen etwas eingehender zu untersuchen, besonders auch mit Rücksicht auf den Glanzkörper, dessen Bedeutung immer noch dunkel ist. Wir wollen daher Bildung und Verhalten des Glanzkörpers bei der Befruchtung im Zusammenhang mit jenen bereits oben erwähnten Ausschwitzungsprozessen besprechen. — Die ersten Angaben über diese Vorgänge gehen auf van Beneden (1883, 1884) zurück. Er beobachtete, daß unmittelbar nach der zweiten Reifeteilung sich stark färbende Plasmaballen von den Spermatiden ausgestoßen wurden. Van Beneden verglich diesen Vorgang mit der Richtungskörperbildung, glaubte aber, daß die Bildung jener Plasmaballen dennoch eine andre Bedeutung hätte. Die vier Spermatiden sollten durch Verschmelzung der Plasmaballen »gekoppelt« werden. Die Plasmakoppel sei der Rhachis zu vergleichen und eine Art von cytophoraler Bildung. — Oskar Hertwig (1890) läßt jene Plasmaballen, »Zwischenkörperchen« genannt, aus degenerierten Keimzellen hervorgehen. Der ganze Vorgang hat für ihn untergeordnete Bedeutung. Marcus (1906) beschreibt diese Zwischenkörperchen ebenfalls und zwar für *Ascaris mystax*. Er ist der Ansicht, daß O. Hertwigs Deutung nur in beschränktem Maße gültig ist, das massenhafte Auftreten der Zwischenkörperchen nicht erklären kann. Er beschreibt richtig die Entstehung jener, die einer Substanzausschwitzung auf der Oberfläche zu vergleichen ist. Die so entstandenen Plasmaballen sollen nach ihm zerbröckeln und verschwinden. Über die Bedeutung des ganzen Prozesses spricht er sich nicht aus.

Scheben (1905) hat den Vorgang anscheinend nicht verfolgt. Mayer (1908) glaubt, daß für die Bildung der Zwischenkörperchen zweierlei Modi verantwortlich gemacht werden können. Die Bildung jener unmittelbar nach der zweiten Reifeteilung auftretenden Zwischenkörperchen erfolgt nach ihm durch Übertritt von ausgeschiedener Kernsubstanz in die Rhachis, die nunmehr funktionslos zusammen mit der ausgeschiedenen Kernsubstanz die Zwischenkörperchen bildet. Wesentlich verschieden von diesen sollen die später auftretenden Zwischenkörperchen sein, die durch jenen Ausschwitzungsprozeß gebildet werden. — Ob diese scharfe Trennung berechtigt ist, scheint sehr zweifelhaft, besonders die Genese der ersten Art von Zwischenkörpern durchaus nicht bewiesen. Mit Sicherheit läßt sich nach meinen Beobachtungen nur die zweite Art der Zwischenkörperbildung feststellen; vermutlich unterscheidet sich die erste Zwischenkörperbildung durch nichts von der zweiten. Der Vorgang ist auf Fig. 46 und 47 dargestellt. Die Substanzausschwitzung ist dabei deutlich zu erkennen. Es zeigt sich nun, daß die ausgeschiedene Substanz zum Teil aus Glykogen besteht. Freilich handelt es sich dabei nur um recht geringe Mengen. Die Hauptmasse ist jedenfalls plasmatisch. Die abgestoßenen Massen »zerbröckeln« nun nicht, wie Marcus meint, sondern verfallen einer regelrechten Phagocytose durch das Wandepithel des Hodenausführgangs, wie übrigens auch Mayer erwähnt. Bei starker Ausbildung des Prozesses der Zwischenkörperbildung ist das Gonadenwandepithel geradezu voll gepfropft mit den aufgenommenen Plasmaballen (Fig. 46). Sie verfallen innerhalb der Wandzellen einer allmählichen Auflösung, wobei sie sich mit einer Vacuole umgeben. — Wir müssen uns nunmehr noch mit der Genese des Glanzkörpers befassen.

Während van Beneden glaubte, daß die Bildung des Glanzkörpers im Uterus des Weibchens erfolgt, wurde von Marcus (1906) für *Ascaris canis* und von Mayer (1908) für *Ascaris megalocephala* nachgewiesen, daß der Glanzkörper im Ausführgang des männlichen Genitalapparats zur Ausbildung gelangt. Das gleiche kann ich für *Ascaris lumbricoides* zeigen. Auf die verschiedenen Typen der Ausbildung des Glanzkörpers, die van Beneden aufgestellt hat, gehe ich nicht weiter ein. Sie stellen wohl Degenerationserscheinungen dar, die mit der später zu besprechenden Spermatozoenresorption durch das Uterusepithel im Zusammenhang stehen. — Über die Genese des Glanzkörpers bestehen bei den einzelnen Autoren erhebliche Differenzen, wobei wir die Angaben Tretjakoffs, nach dem die Entstehung des Glanzkörpers als »ein Anwachsen eines kleinen Pünktchens hinter dem Kern« (zitiert nach Marcus) aufzufassen ist, als vollkommen irrig unberücksichtigt lassen.

Nach Marcus erfolgt die Bildung in der Weise, daß sich die zahlreichen, das Plasma erfüllenden »glänzenden Dotterkügelchen« in Form eines »hohlen Kegels« aneinanderlegen, wobei es offen bleibt, ob diese »Dotterkügelchen« untereinander verschmelzen oder nicht. Anders Scheben. Nach ihm entsteht der Glanzkörper aus dem Kern, wobei er freilich, wie auch Marcus hervorhebt, den Begriff Kern bei der *Ascaris*-Spermatide nicht für das chromatische Element allein reserviert, sondern jene Vacuole, in der das Chromatin in Form einer Kugel liegt (Kernvacuole), ebenfalls als zum Kern gehörig betrachtet. Diese Definition führt weiterhin zu unhaltbaren Konsequenzen, was Scheben anscheinend selbst fühlt und worauf auch Marcus, der die Schebensche Kerndefinition mit Recht nicht akzeptiert, hinweist. Nach Scheben geht nun die Bildung des Glanzkörpers folgendermaßen vor sich: Die Vacuole, in der der Kern liegt, wächst stark an, ebenso erfahren die in ihr gelegenen chromatischen Körnchen eine starke Zunahme. Dadurch, daß sich diese chromatischen Körnchen aneinanderlegen und zu einer kompakten Masse zusammentreten, entsteht der Glanzkörper. — Mayer (1908) schildert den Vorgang in andrer Weise. Nach ihm sind es eben jene »Dotterkugeln«, die ursprünglich gleichmäßig im Plasma verteilt, allmählich miteinander verschmelzen und so den Glanzkörper bilden. —

Nach meinen Beobachtungen an *Ascaris lumbricoides* verläuft die Bildung des Glanzkörpers genau so, wie von Mayer für *Ascaris megalocephala* beschrieben. Es sind eben jene »Dotterkügelchen«, die durch allmähliche Verschmelzung den Glanzkörper aus sich hervorgehen lassen (Fig. 54a—d). Von einer nucleären Herkunft kann also keine Rede sein, wie Scheben zu dieser Auffassung gelangt, ist gänzlich unverständlich.

Es fragt sich nun noch, ob jene Dotterkügelchen denn wirklich »Dotter« darstellen. Sowohl O. Hertwig (1890), wie K. C. Schneider (1902), Marcus (1906) und Scheben (1905) bedienen sich dieser Bezeichnung, liefern aber keinen Beweis dafür, daß es sich wirklich um Dotter handelt. Mayer vermeidet den Ausdruck Dotter, und spricht statt dessen von »Glanzkörpergranulationen«. Zunächst gehört ja wohl das Vorkommen von Dotter in Spermatozoen, falls überhaupt beobachtet — ein positiver Fall ist mir nicht bekannt — zu den größten Seltenheiten[1]). Dann muß es aber ferner wundernehmen, daß, wo die Spermatiden zwei-

[1]) Der von Léger beschriebene Fall der Spermatozoide von *Stylorhynchus*, den auch Marcus erwähnt, und den dieser Autor als primitiven Zustand direkt mit den Verhältnissen bei *Ascaris* vergleicht, kann für uns als Ausnahme von der Regel keine Beweiskraft besitzen, noch dazu, wo es wohl nicht angängig ist, diese an einem Protozoon gemachte Beobachtung direkt auf die Metazoen zu übertragen.

mal eine Abstoßung von Plasma erleiden und sich dabei auch der geringen Mengen von Glykogen, die sie enthalten, entledigen, solche im Vergleich zum ganzen Spermatozoon geradezu ungeheuere Mengen von Dotter dem Ei zuführen sollten; ganz abgesehen davon, daß dieser »Dotter« keinerlei ätherlösliche Bestandteile enthält. Ich kann mich daher der Annahme, daß es sich hier um Dotter handelt, nicht anschließen und muß die Frage nach der Natur des Glanzkörpers offen lassen. Eine der mutmaßlichen Funktionen des Glanzkörpers werden wir aber gleich noch zu besprechen haben. — Vorher jedoch muß noch eine höchst merkwürdige Angabe Braults und Loepers Erwähnung finden. Brault und Loeper finden das Lumen des Hodens »gorgée de petits amas sphériques, réfringents, très granuleux . . . les corpuscules réfringents ne sont autres que des cellules spermatiques mères et sont dépourvues de glycogène«.

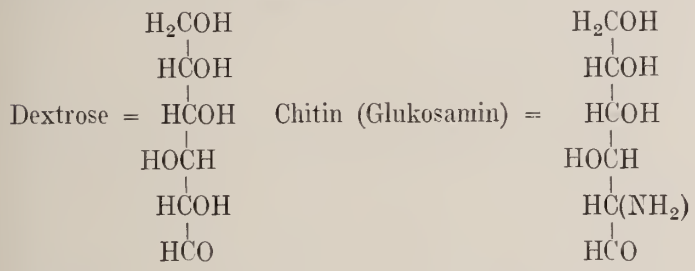
Ob Brault und Loeper die »Zwischenkörperchen« oder die »Dotterkugeln« der Spermatiden meinen, lasse ich dahingestellt und enthalte mich zu diesen Angaben jedes weiteren Kommentars. — Verfolgen wir nun das Verhalten des Glanzkörpers nach dem Eindringen des Spermatozoons ins Ei. Wir haben bereits bei Besprechung der Glykogenverteilung im Ovar gesehen, welche Massen von Glykogen im Reifei aufgestapelt sind, ohne daß zunächst ein starker Verbrauch stattfindet. Erst nach dem Eindringen des Spermatozoons setzt eine lebhafte Glykogenabnahme ein, und zwar zunächst in unmittelbarer Umgebung des zerfallenden Glanzkörpers (Fig. 5, 43). Während an der Peripherie das Glykogen noch vollständig intakt ist, hat in der Mitte, in der Umgebung des zerfallenden Glanzkörpers eine erhebliche Lösung stattgefunden und zwar sind diese Verhältnisse bei allen sich auf dem gleichen Stadium befindlichen Eiern dieselben, wie schon oben erwähnt. Der Glanzkörper hat eine deutlich Glykogen spaltende Wirkung. Der Zerfall des Glanzkörpers im Ei erfolgt in der Weise, daß sich stark färbbare Granulationen bilden, was bereits von früheren Autoren (L. und R. Zoja) und neuerdings von A. Mayer (1908) beobachtet wurde. Meves (1910b) versucht nun diese Verhältnisse in der Weise zu deuten, daß er diese — sich wie so vieles andre mit der Bendaschen Mitochondrienfärbung blaufärbenden Granulationen — als eine »Aussaat männlicher Mitochondrien im Ei« betrachtet. Daß eine solche tatsächlich vorliegt, scheint ihm nach seinen eignen, zurzeit übrigens noch nicht mit Abbildungen belegten (vgl. jedoch den Nachtrag) und nach den Beobachtungen der Gebr. Zoja als »sicher gestellt«. Wir werden weiter unten noch auf die Mevesschen Vorstellungen einzugehen haben. Ich beschränke mich daher hier auf die Bemerkung, daß man im vorliegen-

den Fall nur dann von einer Aussaat männlicher Mitochondrien reden kann, wenn die Identität der beim Zerfall des Glanzkörpers im Ei auftretenden Bildungen mit dem in den Spermatiden von Mayer (1908) u. a. beobachteten Mitochondrienkörper erwiesen ist, und man die Möglichkeit, daß diese Mitochondrien nicht Produkte des Glanzkörperzerfalls sind — was mir zunächst das Wahrscheinlichste ist — ausschließen kann. Meiner Meinung nach kommt dem Glanzkörper demnach bei der Befruchtung die, wenn auch sicherlich nicht alleinige Aufgabe zu, das im Ei aufgestapelte Glykogen in assimilierbaren Zucker überzuführen. Es wäre denkbar, daß das Ei entweder niemals ein saccharifizierendes Ferment besessen, oder aber die Fähigkeit ein solches zu bilden, verloren hätte, während das Spermatozoon diese Fähigkeit noch besitzt und durch Einführung ins Ei diesem die Möglichkeit gäbe, das Reservematerial zu verarbeiten. Hier begegnen wir den für die Eireife von R. Hertwig (1902, 1905) entwickelten Vorstellungen. Daß die Übertragung von Fermenten durch die Geschlechtszellen an sich nichts Außergewöhnliches ist, beweisen die Untersuchungen Wo. Ostwalds (1907) über das »Vorkommen von oxydativen Fermenten in den reifen Geschlechtszellen der Amphibien«, sowie als morphologische Ergänzung der Ostwaldschen Untersuchungen die von R. Fick (1893), der zu prinzipiellen gleichen Resultaten bei der Reife und Befruchtung des *Axolotl*-Eies gelangte.

9. Spicularapparat.

Hinsichtlich des Baues des Spicularapparats können wir uns kurz fassen. Eine eingehendere Darstellung findet sich bei Voltzenlogel (1902). Nach ihm sind die Spiculae nicht, wie das Leuckart angab, solide Borsten, sondern, wie auch bereits Schneider (1866) beobachtete, hohle, zapfenartige Bildungen, die aus einer äußeren cuticularen Schicht und einer inneren Markschicht bestehen. Letzterer sind nach Voltzenlogel gröbere oder feinere Brocken eingelagert, über deren Natur weder Schneider noch Voltzenlogel etwas angeben können. Hinsichtlich weiterer Einzelheiten sei auf die Darstellung Voltzenlogels, der ich nichts Wesentliches zuzufügen habe, verwiesen. Von Interesse für uns sind die starken Glykogenablagerungen innerhalb der Markschicht der Spiculae (Photo 8). Jene Schollen und Brocken, deren Natur Schneider und Voltzenlogel begreiflicherweise nicht erkennen konnten, bestehen eben aus Glykogen, wie die Bestsche Färbung im Verein mit Speichel und Jodreaktion unzweifelhaft dartut. Diese an sich vielleicht etwas befremdliche Tatsache findet ihre Erklärung, wenn wir berücksichtigen, daß überall da, wo es sich um Bildung keratin- oder chitin-

artiger Produkte handelt, das Auftreten von Glykogen nachgewiesen wurde, so z. B. auf morphologischem Wege: von Barfurth (1885) besonders instruktiv beim Wachsen des Kaninchenhaares, von Arnold (1908) in Knorpelzellen, auf physiologisch-chemischem Wege: von Weinland (1907) in seinen Untersuchungen über die Stoffumsetzungen während der Metamorphose von *Calliphora vomitoria*, wo er feststellen konnte, daß in dem Maße, wie das Chitin zunimmt, das Glykogen, bzw. der Zucker, abnimmt, ein Vorgang, der sich bei Betrachtung der Formeln von Chitin (Glukosamin) und Dextrose als Austausch einer Amidogruppe gegen eine Hydroxylgruppe leicht begreifen läßt.



Wir wissen zwar nicht, ob die Rindenschicht der Spiculae tatsächlich aus Chitin besteht, jedenfalls aber ist auch hier der Schluß unabweisbar, daß ebenso wie beim Haar das Glykogen eine der Muttersubstanzen der Spiculae darstellt.

10. Isolationsgewebe.

Goldschmidt (1905/1906) gab eine eingehende Schilderung jenes Gewebes, das den Raum zwischen Darm und Muskulatur ausfüllt, nachdem vorher bereits Apathy (1893) und K. C. Schneider (1902) eine, wenn auch nicht in allen Punkten richtige, Darstellung der Verhältnisse gegeben hatten. Dieses Gewebe besteht aus dünnen Lamellen, die sich zwischen Darm und Muskulatur bis zur Subcuticula hin erstrecken und durch ihre Anordnung in den verschiedenen Ebenen des Raumes ein kompliziertes System von Waben und Blasen bilden, ähnlich wie ein Seifenschaum. Während aber K. C. Schneider den zelligen Aufbau dieses Gewebes ebenso wie Apathy nicht erkannte, gelang Goldschmidt (1905/1906) der Nachweis, daß das Gewebe von einer Anzahl Zellen gebildet wird, von denen vier kleineren, dem Hinterrand des Nervenrings dicht anliegend, die Bildung des vorderen Teiles des Gewebes zukommt, während die fünfte große Zelle dem hinteren Abschnitt des Oesophagus dorsal mit ihrem spindelförmigen Zelleib dicht anliegt und als Bildungszelle des hinteren Abschnitts des Isolationsgewebes aufgefaßt werden

muß. Goldschmidt läßt dabei offen, ob außer diesen fünf Zellen — besonders für den mittleren und hinteren Teil dieses Gewebes — noch andre Bildungszellen in Betracht kommen, da bei der Größe des Tieres weitere Bildungszellen sich leicht dem Nachweis entziehen können. Ich muß die Goldschmidtschen Angaben in allen Teilen bestätigen. Die große »Isolationszelle«, die dem Oesophagus dorsal aufliegt, ist in Fig. 42 im Querschnitt wiedergegeben, so daß über ihre Existenz keinerlei Zweifel bestehen kann. Weitere Bildungszellen — außer den vier kleinen am Nervenring — konnte auch ich nicht auffinden, obgleich ich für meine Untersuchungen unter anderm ein ganzes Tier von etwa 6 cm Länge von vorn bis hinten mikrotomiert habe. Freilich sind Verluste dabei unvermeidlich, immerhin aber die Wahrscheinlichkeit, daß außerdem weitere Isolationszellen vorkommen, gering. — Bevor wir uns der Betrachtung der Physiologie dieses Gewebes zuwenden, seien noch einige Angaben, die von obiger Schilderung abweichen, berücksichtigt. So sprechen Brault und Loeper (1904) von einer Insertion der Muskelzellen am Darm! Was sie gesehen, sind wahrscheinlich solche Lamellen des Isolationsgewebes gewesen, das ja an der Grenzlamelle des Darmes ansetzend zu den Markbeuteln zieht und diese umspinnt. — Bilek (1909) bestreitet einfach das Vorhandensein des Isolationsgewebes, das Apathy, K. C. Schneider und Goldschmidt eingehend schilderten, deren Angaben durch die vorliegende Untersuchung vollauf bestätigt werden. Nach Bileks Darstellung ist der Sachverhalt folgender: zwar findet sich in der Leibeshöhle eine Art von solch »gefensterter Membran« — wie Bilek sie nach dem Vorgehen Apathys nennt —, doch ist ihre Genese nach Bilek so zu erklären, daß sie durch die bei der Fixierung erstarrte, während des Lebens in der Leibeshöhle der Nematoden reichlich »cirkulierenden Lymphe«, gebildet wird. (!) »Es läßt sich durch Aufschneiden einer lebenden Ascaride leicht beobachten, daß aus der verwundeten Stelle eine klare hyaline, lymphatische Flüssigkeit in großer Menge abtröpfelt, welche an der Luft bald zur durchsichtigen, klebrigen Masse erstarrt«. Bilek kommt also zu dem Schluß, daß die Angaben Apathys und damit natürlich die Schneiders und Goldschmidts »sich als unhaltbare Deutungen von evidenten Kunstprodukten repräsentieren«! Zwar haben die hierher gehörenden Bilekschen Angaben bereits durch Goldschmidt (1909/1910) die gebührende Abfertigung erfahren, doch muß auch ich noch kurz auf dieselben eingehen. Daß Bilek das Isolationsgewebe überhaupt für ein Kunstprodukt halten konnte, spricht nicht sehr für die Güte seiner Präparate. Der Nachweis der Bildungszellen des Gewebes durch Goldschmidt (1905/1906) — dessen Arbeit er nicht kennt — und

die vorliegende Bestätigung der Goldschmidtschen Befunde entzieht Bileks Behauptungen völlig den Boden. Die »hyaline, lymphatische Flüssigkeit, die der Leibeshöhle nach Anschneiden entfließt und zu einer durchsichtigen, klebrigen Masse erstarrt«, besteht größtenteils aus Zucker und Glykogen, wie man leicht zeigen kann (Glykogenreaktion mittels Jod, Trommersche Probe), ist also gar keine »Lymphe«!

Wenn wir uns nun der Besprechung der Funktion des Isolationsgewebes zuwenden, so müssen wir zunächst feststellen, daß es niemals gelang Glykogen in ihm nachzuweisen. Wohl aber konnte durch Injektion von warmer Fehlingscher Lösung nachgewiesen werden, daß innerhalb des Isolationsgewebes eine Lösung von reduzierendem Zucker cirkuliert. Dadurch erhellt nun die Bedeutung des Gewebes, es obliegt ihm die Aufgabe, den Rücken-, Bauch- und Seitenlinien, der Subcuticula, besonders aber den Muskelzellen und den Geschlechtsorganen den zur Glykogenbildung nötigen Zucker zuzuführen. Wir sahen bereits, daß durch die Grenzlamelle des Darmepithels niemals Glykogen durchtritt. Der Schluß, daß der Transport der Kohlehydrate vom Darm zu den Glykogen enthaltenden Organen in Gestalt von Zucker erfolgt, ist demnach unabweislich und steht in vollkommener Übereinstimmung mit den bei Wirbeltieren gemachten Erfahrungen. Man muß sich dabei vergegenwärtigen, daß das Glykogen keine echten, sondern kolloidale Lösungen bildet. Die Kolloide aber besitzen kein Diffusionsvermögen. Es ist deshalb für den Organismus von Wichtigkeit, daß solche Reservesubstanzen wie Stärke und Glykogen jederzeit in leicht diffusiblen Zucker übergeführt und so den einzelnen Organen zugeleitet werden können. Wir sehen also, daß dem Isolationsgewebe wohl eine andre Bedeutung zugeschrieben werden muß, als Goldschmidt ursprünglich glaubte. Es hat weniger die Aufgabe, die einzelnen Muskelzellen voneinander zu »isolieren«, als eben vikariierend für ein Gefäßsystem einzutreten. Es ist daher vielleicht auch richtiger, den alten Namen »Füllgewebe« beizubehalten. — Es erübrigt sich noch, auf die sich auf den Glykogengehalt des Füllgewebes beziehenden Angaben Braults und Loepers einzugehen. Brault und Loeper haben zwar anscheinend die Existenz des Füllgewebes richtig beobachtet, behaupten aber, daß sich in der Umgebung des Oesophagus innerhalb des Füllgewebes starke Glykogenablagerungen finden. «C'est en ces points que le glycogène paraît le plus abondant», diese Angabe steht meinen Beobachtungen diametral gegenüber. Wahrscheinlich haben Brault und Loeper angeschnittene Markbeutel mit dem Füllgewebe verwechselt, was mir auch deswegen wahrscheinlich erscheint, weil sie diesen glykogenhaltigen »Organen« drüsige Struktur unterschieben —

trotzdem sie eine solche nicht beobachten konnten — und sie für dem vorderen Teil des Darmes zugeteilte Glykogenreserven halten, die der Organismus im Bedarfsfalle angreift, die also dieselbe physiologische Bedeutung haben wie wirkliche Drüsen, (Leber). Ich enthalte mich jedes weiteren Kommentars.

11. Phagocytäre Organe.

Im vorderen Drittel des *Ascaris*-Körpers liegen vier große büschelförmige Organe, den Seitenlinien zu je zwei hintereinander angeordnet auf. Durch den Besitz je eines mächtigen Kernes erweisen sie sich als einzellig. Der Bau und die Funktion dieser Zellen ist mehrfach Gegenstand der Untersuchung gewesen. Die ältesten Angaben gehen abermals auf A. Schneider zurück. Eine weitere Darstellung der Verhältnisse wurde durch Jägerskiöld (1898), Nassonow (1897, 1900) und Spengel (1897) gegeben. Ferner zitiert Goldschmidt (1905/1906) noch Untersuchungen von Metalnikoff und Golowin. Bereits Nassonow glaubte festgestellt zu haben, daß diese »büschelförmigen Zellen« phagocytäre Funktion hätten, da sie in die Leibeshöhle injizierte Tusche aufnehmen, Metalnikoff und Golowin haben bei Farbstoffinjektionen zum Teil positive, zum Teil negative Resultate in bezug auf die Aufnahme von Farbstoffen durch die büschelförmigen Zellen gehabt. — Ich selbst habe ebenfalls nach Injektion von Tusche eine Aufnahme derselben durch die büschelförmigen Zellen beobachten können, indessen fand ich in den Markbeuteln der Muskelzellen ebenfalls reichliche Tuscheanhäufungen und letzteren kommt doch sicherlich eine phagocytäre Funktion nicht zu. Es scheint mir also zum mindesten zweifelhaft, ob durch Aufnahme von injizierten Farbstoffen die phagocytäre Bedeutung dieser Zellen erwiesen ist. Was ihre excretorische Bedeutung im allgemeinen betrifft, so muß es jedenfalls auffällig erscheinen, daß es mir nicht gelingen wollte, innerhalb derselben Harnsäurekristalle nachzuweisen; auch die Murexidprobe auf Harnsäure verlief negativ. Wenn man bedenkt, daß bei Wirbellosen meist die Harnsäure das Endprodukt der regressiven Eiweißmetamorphose ist (v. Fürth 1903), so kann dieses Ergebnis gewiß nicht als Stütze für die Anschauung einer excretorischen Funktion der büschelförmigen Zellen betrachtet werden.

Nun mußte es auffallen, daß in keinem einzigen Fall — selbst nicht nach Dextroseinjektion — von Glykogenablagerungen innerhalb dieser Zellen auch nur eine Spur zu bemerken war. Ausnahmslos erwiesen sich alle vier Zellen als völlig glykogenfrei. Es wäre daher denkbar, daß sie im Zusammenhang mit der Bildung eines diastatischen Ferments stehen.

In Übereinstimmung mit dieser Annahme würde die Tatsache stehen, daß, wenn man zwischen die vier Zellen eine etwa 10%ige Lösung von *Ascaris*-Glykogen injiziert, sich selbst nach unmittelbar darauf erfolgender Fixierung in nächster Nähe der büschelförmigen Zellen niemals mehr Glykogen nachweisen läßt. Freilich muß unumwunden zugegeben werden, daß ein strikter Beweis für obige Annahme in diesen Versuchen nicht gegeben ist (Versuche die Einwirkung herauspräparierter büschelförmiger Zellen auf *Ascaris*-Glykogen und Zuckerlösungen zu prüfen, haben mir noch nicht genügend eindeutige Resultate geliefert). So müssen wir denn die physiologische Bedeutung dieser Zellen als noch nicht völlig aufgeklärt betrachten, da auch die Rautherschen Untersuchungen (1907b) über die Lokalisation der Nierenfunktionen bei freilebenden Nematoden für die uns hier interessierende Frage keine Lösung zu geben vermögen.

12. Cuticula.

Der Bau der Cuticula von *Ascaris* hat eine eingehende Darstellung gefunden in den Arbeiten von van Bömmel (1895), Toldt (1899) und Goldschmidt (1904), auf die betreffs Einzelheiten verwiesen werden muß. Nach van Bömmel und Goldschmidt (1904) lassen sich an der Cuticula folgende Schichten unterscheiden: 1. das Grenzhäutchen, 2. die äußere und innere Rindenschicht, 3. die Fibrillenschicht, 4. die homogene Schicht, 5. die Bänderschicht, 6. die äußere, mittlere und innere Faserschicht, 7. die Basalschicht und 8. die Grenzmembran. Es liegt nicht in meiner Absicht, in eine Diskussion darüber einzutreten, ob es zweckmäßig und gerechtfertigt erscheint, diese Schichten sämtlich scharf voneinander zu trennen, sondern gehe nur auf einen Punkt ein, der wegen der über ihn bestehenden Divergenz der Meinungen von Interesse ist. Es handelt sich um die Fibrillenschicht, die van Bömmel richtig beschrieb, von Toldt aber nicht als eine solche, sondern als ein System von Saftbahnen aufgefaßt wurde. Goldschmidt (1904) wies diese Auffassung zurück, was Toldt (1904a u. b) zu einer Erwiderung veranlaßte, in welcher er die Auffassung, daß die Fibrillenschicht ein Saftbahnensystem darstelle, aufrecht erhielt. In einer dieser Frage eigens gewidmeten Untersuchung konnte Goldschmidt (1904) nachweisen, daß die Angaben Toldts auf Irrtum beruhen, was indessen Toldt nicht abhielt, nochmals auf die Frage zurückzukommen (1904b), ohne freilich die Goldschmidtschen Angaben widerlegen zu können. Der Grund, warum auch ich auf die Frage nach der Existenz jenes angeblichen Systems von Saftbahnen zurückkomme, ist der, daß K. C. Schneider (1908) neuerdings die Toldtsche Schilderung unverändert in sein »Histologisches Praktikum« über-

nommen hat. Ich glaube in der Lage zu sein, an Hand einwandfreier Präparate die fibrilläre Natur der Toldtschen »Saftkanälchen« nachzuweisen und bitte einen Blick auf Fig. 21 zu werfen, die die Verhältnisse bei *Ascaris lumbricoides* im Querschnitt zeigt und geeignet erscheint, ohne weiteres die Darstellungen van Bömmels und Goldschmidts als den Tatsachen entsprechend zu beweisen, ganz abgesehen davon, daß die physiologische Bedeutung eines Saftbahnensystems innerhalb einer Cuticula denn doch sehr dunkel erscheinen müßte, noch dazu, wo weder, von van Bömmel, noch Goldschmidt, noch mir eine kontinuierliche Verbindung der Cuticulaoberfläche mit der Subcuticula nachgewiesen werden konnte. Man darf also wohl mit Goldschmidt hoffen, daß die Angaben über das »Saftbahnensystem« in der Cuticula von *Ascaris* nunmehr endlich aus der Literatur verschwinden zugunsten der van Bömmel-Goldschmidtschen Darstellung. — Bezüglich des Vorkommens von Glykogen kann ich mich mit der kurzen Angabe, daß niemals in der Cuticula — auch nicht in dem »Saftkanälchen« — Glykogen nachgewiesen werden konnte, begnügen.

13. Nervensystem.

Wir müssen es uns hier versagen, auf Details bezüglich des Nervensystems von *Ascaris* einzugehen, zumal da über dieses Thema die nunmehr vollständigen Untersuchungen Goldschmidts (1908, 1909 u. 1910) vorliegen, dessen Angaben nachzugehen selbstverständlich völlig außerhalb des Rahmens vorliegender Untersuchung liegen mußte. Nur ein Punkt möge hier Berücksichtigung finden. — Deineka (1908) hatte eine Schilderung der Analpapillen von *Ascaris* gegeben und glaubte dabei festgestellt zu haben, daß diese Papillen von zweierlei Nervenfasern innerviert würden, die er als Fasern erster und zweiter Art unterschied. Die letzteren sollen innerhalb der Papillen ein zerzaustes Aussehen erhalten und durch ihre netzartige Durchflechtung das Zustandekommen eines birnenförmigen Körpers bewirken. Mit vollem Recht weist Goldschmidt diese Ansicht als völlig unbegründet zurück. Er vermag zu zeigen, daß die sogenannten Fasern zweiter Art nichts mit Nervenfasern zu tun haben, vielmehr in ihrer Gesamtheit die in jeder Analpapille zu beobachtende Stützzelle, in welche die eigentliche Nervenfaser eintritt, darstellen. Goldschmidt hat die Richtigkeit seiner Auffassung mit erdrückendem Beweismaterial belegt. Ich kann seinen Beweisgründen einen weiteren zufügen, der — falls dies überhaupt noch nötig sein sollte — die Auffassung von der nervösen Natur der Stützzellen als unhaltbar erscheinen lassen muß. Es bezieht sich das auf das Verhalten des Glykogens zum Nervensystem. Man

trifft nämlich selbst bei noch so reichlichem Glykogengehalt der Organe innerhalb der Ganglienzellen und Nervenfasern niemals Glykogen, welche Tatsache sich ja auch in schönster Übereinstimmung mit an andern Wirbellosen wie Wirbeltieren gemachten Erfahrungen befindet (Barfurth 1885, Gierke 1907, Encyklopädie der mikroskopischen Technik 1910). Dagegen ließ sich, wenn auch nur in ganz vereinzelten Fällen innerhalb der Stützzellen der Analpapillen Glykogen nachweisen. Ein über jeden Zweifel erhabener derartiger Fall ist in Fig. 26 abgebildet. Ich glaube, daß nunmehr über die nichtnervöse Natur der Deineka-schen Fasern zweiter Art kein Zweifel mehr möglich, die stützende und zugleich nutritive Funktion jener »Stützzellen« erwiesen ist. Bedauerlich muß es nur erscheinen, daß auch in diesem Fall die unrichtige Deinecka-sche Darstellung der Verhältnisse Eingang in K. C. Schneiders »Histologisches Praktikum« gefunden hat.

bb) Das Glykogen beim Hungertier.

Es war selbstverständlich für die vorliegende Untersuchung von Interesse zu ermitteln, in welcher Weise und an welchen Stellen das Glykogen beim hungernden Tier verbraucht wurde, nachdem Weinland die eigentümliche, als tierische Gärung zu bezeichnende Spaltung des Glykogens während des Hungers festgestellt hatte. Zum Zweck des Lebenerhaltens der Tiere verfuhr ich in der von Weinland angegebenen Weise. Die Tiere wurden in Rezipienten, die mit ausgekochter und auf 37° abgekühlter 1%iger NaCl-Lösung gefüllt waren, bei einer konstanten Temperatur von 37° im Dunklen mit CO_2-Respiration gehalten. Die im Kippschen Apparat entwickelte CO_2 wurde durch eine Waschflasche und dann so lange durch den Rezipienten (Wulffsche Flasche mit zwei Hähnen) geleitet, bis das abströmende Gas durch Kalilauge fast völlig absorbiert wurde. Hierauf wurde der ableitende Hahn geschlossen und der zuführende noch so lange offen gehalten, bis der Druck im Kippschen Apparat gleich dem im Rezipienten war, darauf auch der zuführende Hahn geschlossen. Die CO_2-Durchlüftung wurde alle 24 Stunden wiederholt. Es gelang auf diese Weise, die Tiere bis zu 6 Tagen ohne Quellungserscheinungen lebend zu erhalten. Bezüglich weiterer Details muß ich auf die Angaben Weinlands (1901) verweisen.

1. Oesophagus.

Die Art und Weise, wie das Glykogen im Kopfabschnitt der Tiere verbraucht wird, ist äußerst charakteristisch. Bereits am 2. Hungertage läßt sich eine erhebliche Abnahme von Glykogen feststellen. Dieser

Glykogenverbrauch betrifft aber zunächst weniger den Oesophagus als die Körpermuskulatur. Fig. 60 zeigt einen Querschnitt durch den Kopfabschnitt eines Tieres, das 36 Stunden gehungert hat. Während die Körpermuskelzellen bereits glykogenfrei sind, ist im Oesophagus noch keine erhebliche Abnahme zu bemerken. Der Grund dafür ist wohl der, daß die Tiere einmal mit dem Kopf fortwährend lebhafte Bewegungen machen, der Mangel an Nahrung im umgebenden Medium aber den Oesophagus nicht zu Saugbewegungen reizt, und dementsprechend die Oesophagusmuskulatur relativ in Ruhe bleibt. Eine erhebliche Abnahme des Glykogengehalts innerhalb des Oesophagus tritt in der Regel erst nach 2—3 Tagen ein; in einigen Fällen konnte ich allerdings auch bereits nach 2 Hungertagen beträchtliche Herabminderung des Oesophagusglykogens feststellen. Nach 4 Tagen fand ich ausnahmslos den Oesophagus völlig frei von Glykogen. Hinsichtlich des Verbrauchs des Glykogens in den einzelnen Zellelementen ist es von Interesse zu konstatieren, daß der regste Verbrauch in unmittelbarer Umgebung der Muskelfibrillen statt hat, das Plasma besonders in unmittelbarer Umgebung des Kernes seinen Glykogenvorrat dagegen relativ lange hält. Die Tatsachen, daß in unmittelbarer Umgebung der Kerne — es kommen hier in erster Linie die Flächenkerne in Betracht — das Glykogen sich relativ lange erhält, konnte ich in allen darauf untersuchten Fällen feststellen. Fig. 7 stellt z. B. einen solchen Flächenkern dar. Die a priori vielleicht nahe liegende Annahme, daß der Kern der Oesophagusmuskelzellen in direkter Beziehung zur Saccharifizierung des Glykogens stände, findet in diesen Beobachtungen also keine Stütze. Von Interesse sind ferner die Veränderungen, die der Kern selbst während des Hungerns durchmacht. Bereits nach längstens 2 Hungertagen sehen wir, wie die Flächenkerne die konzentrische Zone, die sie bei frisch dem Wirtsdarm entnommenen Tieren stets umgibt, völlig verlieren. Desgleichen läßt sich eine deutliche Kernmembran nicht mehr nachweisen. Das Chromatin verschmilzt mit den Nucleolen und den übrigen achromatischen Kernbestandteilen zu einer homogenen Masse, die an Chromatizität stark abnehmend, am 5. oder 6. Hungertage sich vom Plasma kaum mehr unterscheidet. Die Kugelgestalt wird aufgegeben, der Kern streckt sich in die Länge und sendet nach allen Seiten spitze pseudopodienartige Fortsätze aus, auf diese Weise seine Oberfläche erheblich vergrößernd (Fig. 7—10). Am 5. bis 6. Hungertag treten dann nekrotische Veränderungen, Vacuolisations- und Verklumpungserscheinungen auf. Es sind diese Erscheinungen deshalb von Bedeutung, weil man geneigt sein könnte, den Zellkernen des Oesophagus keine große Bedeutung für die stofflichen Veränderungen

innerhalb dieses Organs beizumessen, da sie ihre Rolle im Zelleben nach Bildung der specifischen Zelldifferenzierungen ausgespielt haben könnten. Tatsächlich kommen z. B. den großen Bildungszellkernen der Excretionskanäle ebenso wie den drei großen »Drüsenzellen« des hinteren Abschnitts des Oesophagus solche Veränderungen während des Hungers nicht zu, ein Beweis dafür, daß ihr direkter Anteil am Zelleben jedenfalls nur gering ist. Um so auffälliger sind dagegen die besprochenen Verhältnisse der Oesophagusflächenzellkerne.

2. Darm.

Der Darm erweist sich als das Organ, das beim Hungern seinen Glykogenvorrat am leichtesten abgibt. Bereits nach 1tägigem Hungern konnte im Vorder- und Mitteldarm kein Glykogen mehr nachgewiesen werden, während der Enddarm eine größere Zähigkeit im Festhalten seines Glykogenbestandes besitzt. Diese Tatsache findet wohl darin seine Erklärung, daß das Darmepithel gewissermaßen nur als Übergangsstation für das Glykogen in Betracht kommt. Es kommt beim Durchgang der Kohlehydrate zu den einzelnen Organen hier nur zu vorübergehenden und damit raschem Wechsel unterworfenen Glykogenablagerungen. Erwähnt mag noch werden, daß auffallenderweise an den Kernen der Darmzellen sich solche Veränderungen, wie sie an denen der Oesophagusflächenzellen während des Hungerns auftreten, niemals beobachten ließen.

3. Muskulatur.

aaa) Körpermuskelzellen.

Von den Körpermuskelzellen verhalten sich die des Kopfabschnitts sehr verschieden von denen der mittleren Körperregion. Während, wie bereits oben erwähnt, die Muskelzellen in der Kopfregion bereits nach längstens 2 Tagen ihren gesamten Glykogenvorrat verloren haben, halten die Markbeutel der Muskelzellen der mittleren Körperregion das Glykogen sehr hartnäckig fest. Es gelang weder durch Hunger noch — wie hier vorweg bemerkt sei — durch Tetanisieren, das Glykogen in den Markbeuteln dieser Muskelzellen zum Schwinden zu bringen. Während innerhalb der kontraktilen Rinde sich bereits nach 1—2 Tagen kein Glykogen mehr fand, enthielt der Markbeutel beim Absterben der Tiere am 5.—6. Tage stets noch erhebliche Mengen. Diese Tatsache steht übrigens auch im Einklang mit an Wirbeltieren gemachten Erfahrungen, wo es nicht gelingt, durch Hungern des Versuchstiers das Glykogen völlig zu entfernen. Über die Art und Weise des Abbaues in der Muskulatur des vorderen Körperabschnitts ist zu erwähnen, daß auch hier der Abbau

in unmittelbarer Umgebung der Kerne meist langsamer vor sich geht, als an den übrigen Stellen. Indessen kann für diese Erscheinung hier auch ein andrer Grund verantwortlich gemacht werden. In den von mir untersuchten Fällen lagen die Kerne nämlich meist in der dem Oesophagus bzw. Darm zugekehrten Hälfte des Markbeutels. Es zeigt sich nun, daß ausnahmslos der Abbau des Glykogens in der Weise fortschreitet, daß zunächst der Vorrat der von der kontraktilen Rinde umschlossenen Muskelspindel angegriffen wird, — was ja leicht verständlich ist, — der Abbau dann nach der Peripherie zu fortschreitet, so daß dem Markbeutel peripher oft kranzförmig der Rest des Glykogens eingelagert ist (Fig. 22). Auf die eigentümlichen Erscheinungen des Adhärierens des Glykogens an den Stützfibrillen wurde schon früher hingewiesen. Daß gerade die Muskelzellen des Kopfabschnitts ihr Glykogen leicht verlieren, wurde bereits zu erklären versucht. Freilich sollte man meinen, daß, wo während einer 5—6tägigen Hungerperiode die Tiere doch immerhin genügend Bewegungen vollführen, für die übrigen Muskelzellen, wenigstens gegen Ende des Versuchs, ähnliche Bedingungen geschaffen sein müßten, wie zu Anfang für die Muskelzellen des Kopfabschnitts. Man kann dem gegenüber entgegnen, daß der Kopf trotzdem lebhaftere Bewegungen vollführt als der übrige Körper, daß aber außerdem wahrscheinlich die Menge und Art und Weise der Glykogenablagerung in beiderlei Muskelzellen eine verschiedene ist. Ich schließe das aus dem Bild, das das Protoplasma beider bietet. Während das Plasma der vorderen Muskelzellen bei der Fixierung stets in Form kleinerer und größerer Granula ausfällt, so den Markbeuteln ein granuliertes Aussehen verleihend (Fig. 22, 27), ist das bei den übrigen Körpermuskelzellen anders. Wie schon erwähnt, zeigen diese in unmittelbarer Umgebung des Kernes ein schaumiges Plasma, das peripher diesen schaumigen Charakter meist verliert oder nur undeutlich erkennen läßt, mit Ausnahme jener Plasmazüge, denen die Stützfibrillen eingelagert sind. Meist ist das Plasma der Markbeutel überhaupt stark reduziert und findet sich dann in Form kleinerer und gröberer Bälkchen und Stränge, denen oft Kügelchen gefällter Eiweißlösungen anhängen. (Vgl. die Abbildungen Bileks und Goldschmidts, Photo Nr. 2.) Den Markbeuteln dieser letzteren Muskelzellen ist das Glykogen meist in Form einer homogenen Masse eingelagert, die oft durch Fixation usw. große Sprünge und Risse zeigt (Fig. 59). Anders bei den vorderen Muskelzellen. Hier findet sich das Glykogen niemals in solchen homogenen Massen, sondern stets in Form kleinerer und größerer Schöllchen und Kügelchen, den Plasmagranulationen angelagert, diese oft umhüllend oder intergranulär. Ich möchte es hierbei dahingestellt sein

lassen, ob wir es bei den Granulationen mit präexistierenden Gebilden oder mit Fixationserscheinungen zu tun haben und damit, ob wir diesen Granula eine Bedeutung für die Glykogenablagerungen und ihre Form zuerkennen müssen oder nicht, ferner ob, falls wir es hier mit nicht artifiziellen Granula zu tun haben, die intergranuläre oder adgranuläre Form der Glykogenablagerung als Kunstprodukt anzusehen haben, um weiter unten auf diese Frage einzugehen.

bbb) Dilatator des Chylusdarms.

Bezüglich des Glykogenabbaues innerhalb dieses Muskels können wir uns kurz fassen. Er ist durch Hunger leicht glykogenfrei zu machen, da er schon normalerweise keine großen Glykogenvorräte enthält (Fig. 50). Begünstigt wird der rasche Abbau, abgesehen natürlich von der starken Inanspruchnahme gerade dieses Muskels auch hier offenbar durch die Art der Glykogenablagerung, die der oben für die vorderen Körpermuskelzellen beschriebenen völlig gleicht. — Ähnliches gilt auch für die

ccc) Spicular- und Bursalmuskulatur,

weshalb ein weiteres Eingehen auf dieselbe nichts wesentlich Neues zutage fördern könnte.

4. Subcuticula.

Das Glykogen der Subcuticula erweist sich als leicht angreifbar, so daß man sie in 3—4 Tagen glykogenfrei machen kann. Das gleiche gilt für

5. Seiten-, Rücken- und Bauchlinien.

Wie wir bereits weiter oben sahen, sind gerade die Seitenlinien als die Organe zu betrachten, die in bezug auf die Glykogenablagerung der Leber der Wirbeltiere vergleichbar sind. Ebenso wie hier der überschüssige Zucker in schwer diffusibler Form in der Weise abgelagert wird, daß das Blut seinen konstanten Zuckergehalt von 0,5—1,0‰ dauernd beibehält, sind bei *Ascaris* die Seitenlinien die Organe, in denen das Reservekohlehydrat in einer Form abgelagert wird, die seinen raschen Transport nach den Stellen des Bedarfs sichert, da einmal die Seitenlinien sich durch die ganze Länge des Tieres hin erstrecken und untereinander, sowie mit Rücken- und Bauchlinie und Körpermuskelzellen durch die Subcuticula verbunden sind, dann aber an diesen Stellen das Glykogen in einer Form abgelagert wird, die seine leichte Saccharifizierung gewährleistet. Wir finden hier nirgends jene großen homogenen Massen, wie oben für die Markbeutel beschrieben, sondern eine schollige und körnige Form des

Glykogens innerhalb des wabig schaumigen Plasmas. — Nach einer 3—4-tägigen Hungerperiode enthielten die vier Körperlinien keine Spur von Glykogen mehr, trotz der enormen Vorräte, die gerade die Seitenlinien bei frisch dem Wirtsdarm entnommenen Tieren zeigen.

6. Zellelemente des Kopfes.

Hinsichtlich dieser Zellen können wir uns kurz fassen. Ihr Glykogenvorrat ist außerordentlich labil und wird bereits durch 1—2tägiges Hungern ganz zum Schwinden gebracht.

7. Ovarien.

Es war von Interesse festzustellen, daß trotz der Zähigkeit, mit der die weiblichen Geschlechtsorgane ihre Glykogenvorräte festhalten, es durch 5—6tägiges Hungern gelingt, in den Ovogonien sowohl wie in reifen und befruchteten Eiern eine beträchtliche Herabminderung des Glykogengehalts zu erzielen. In einigen Fällen gelang es sogar, reife und befruchtete Eier völlig glykogenfrei zu machen (Fig. 44). Gleichzeitig fiel eine beträchtliche Abnahme des Volumens des Eiplasmas auf (was allerdings auch auf Schrumpfung beruhen kann), wie ein Vergleich zwischen Fig. 43 und Fig. 44 zeigt, während der Rauminhalt der Schale keine Verkleinerung erleidet. Inwieweit diese Glykogenabnahme die Vorgänge der Reife beeinflußt, habe ich in diesem Zusammenhang als zu weit führend nicht berücksichtigen können. — Bezüglich des

8. Hoden

gilt mutatis mutandis das gleiche wie für die Ovarien und so bleibt schließlich noch zu erwähnen, daß auch beim

9. Spicularapparat

innerhalb der Spiculae bei genügender Dauer der Hungerperiode Herabminderung des Glykogengehalts beobachtet wurde.

cc) Das Glykogen bei in der Kälte und im Licht gehaltenen Tieren.

Ich konnte ebenso wie Weinland die Erfahrung machen, daß *Ascaris* gegen Temperaturunterschiede, besonders niedere, sehr empfindlich ist. Tiere, die in eine Temperatur von 8° gebracht werden, sind schon nach 2—3 Stunden abgestorben. Es zeigt sich, daß auch ihr Glykogenvorrat, besonders der der Seitenlinien, stark abgenommen hat.

Dagegen scheint das Licht keinen Einfluß auf die Schnelligkeit des Glykogenverbrauchs zu haben. Ich hielt Tiere unter den oben angeführten Versuchsbedingungen während 5 Tagen in grellem Sonnenlicht, gegen Abend bis 8 Uhr bei einer Beleuchtung von 150 N. K., so daß die

Tiere also während etwa 12 Stunden in grellem Licht verblieben. Es zeigte sich zunächst, daß die Tiere im Sonnenlicht äußerst lebhafte Bewegungen vollführten, lebhaftere als im Dunkeln. Der Kopf erhielt alsbald eine bräunliche bis schwärzliche Verfärbung, über deren histologischen Charakter ich leider nichts aussagen kann, da, falls die Pigmentierung noch nach der Fixation vorhanden, sie nach Paraffinauflösung der Schnitte regelmäßig verschwunden war, eine Erscheinung, die ja für die lipochromen Pigmente bekannt ist. Einen Anhaltspunkt dafür, daß dem Licht etwa auch eine begünstigende Rolle bei der Glykogenspaltung zukäme, konnte ich in keinem Fall beobachten. Da die Tiere der Lichtkultur natürlich auch hungerten, hätte sich irgendwie eine Summation beider Faktoren zeigen müssen, was indessen, wie gesagt, nicht der Fall war, da ein Vergleich von Tieren der Hungerlichtkultur mit denen der Hungerdunkelkultur lehrte, daß eine irgendwie erhebliche Differenz zwischen beiden nicht bestand. Freilich wäre es zum definitiven Entscheid dieser Frage unerläßlich, kontrollierende physiologisch-chemische quantitative Versuche anzustellen, da die Tatsache, daß trotz größerer Muskelleistungen als im Dunkeln morphologisch hier keine größere Glykogenabnahme als dort nachzuweisen war, auffällig ist.

dd) Glykogenablagerungen nach Dextroseinjektionen bei Ascaris.

Weinland (1902a) konnte feststellen, daß es nach Dextroseinjektionen nicht nur zu einer Ersparnis des Glykogenverbrauchs hungernder Ascariden, sondern sogar zu einem beträchtlichen Ansatz von Glykogen kommt. Nach seinen Versuchen berechnet sich der Glykogengehalt per 100 g frisches Tier am 2. Hungertag auf etwa 4,5 g. Nach je einer Injektion von 40%iger Dextroselösung am ersten und zweiten Versuchstag fanden sich dagegen 6,41 g Glykogen per 100 g Tier. Ein so beträchtlicher Glykogenansatz mußte sich demnach auch morphologisch nachweisen lassen. — Ich verfuhr bei diesen Versuchen in der von Weinland angegebenen Weise. Die Ascariden erhielten am 1. und 2. Versuchstag je eine Prawatzsche Spritze voll 40%iger Dextroselösung. Meist wurde zwar ein Teil der injizierten Lösung durch die Einstichöffnung wieder ausgespritzt, doch wurde wohl immerhin noch eine ziemliche Menge (wie viel läßt sich natürlich nicht bestimmen) der Zuckerlösung einbehalten. Die Injektion erfolgte am 1. und 2. Nachmittag. Am Abend des 2. Versuchstags wurden die Tiere fixiert, da es nicht gelang, die Tiere auf diese Weise länger als 2 Tage am Leben zu erhalten. Die morphologische Untersuchung ergab, daß sich ein beträchtlicher Glykogenansatz nachweisen ließ, der besonders auffallend im Darmepithel, ferner in den Seitenlinien

und der Subcuticula war. Wie oben bemerkt, ist nach 2 Hungertagen das Darmepithel völlig frei von Glykogen. Ich bitte nun demgegenüber Fig. 13 zu vergleichen, die einen schwachen Begriff von der Anhäufung des Glykogens im Darmepithel gibt, ja die sogar ganz, wie es die Weinlandschen quantitativen Bestimmungen ergeben haben, gegenüber den frisch dem Wirtsdarm entnommenen Tieren einen erheblichen Glykogenansatz zeigen, wie ein Vergleich von Fig. 12, Photo 7 und Fig. 13 lehrt. Es kann also kein Zweifel darüber bestehen, daß Dextrose bei *Ascaris* tatsächlich ein echter Glykogenbildner ist. — Schließlich sei noch erwähnt, daß es auch innerhalb des Oesophagus nach Dextroseinjektionen zu beträchtlichen Anhäufungen von Glykogen kommt, was für unsre späteren Betrachtungen von Wichtigkeit ist.

ee) Zur Morphologie des Glykogens bei verwandten Formen (Gordius aquaticus, Heterakis maculosa, Ascaris megalocephala, Ascaris mystax, Polystomum integerrimum und Fasciola hepatica).

Nachdem Weinland (1901) auf physiologisch-chemischem Wege bei *Taenia expansa*, *Ascaris lumbricoides*, *Ascaris mystax* und *Fasciola hepatica* (1902), Brault und Loeper (1904) auf morphologischem Wege bei *Taenia*, *Ascaris* und *Strongylus*, Busch (1905) ebenfalls auf morphologischem Wege bei verschiedenen Tänien, *Ascaris lumbricoides* und *megalocephala*, *Oxyuris vermicularis*, *Sklerostomum armatum* und *Ankylostomum duodenale* Glykogen nachgewiesen hatten, lag es nahe, noch einige weitere Formen auf die Morphologie des Glykogens hin zu prüfen. Zunächst *Gordius aquaticus*, von dem mir leider nur altes Spiritusmaterial zur Verfügung stand, bei welchem sich Muskulatur und »Fettgewebe« als Glykogen führend erweist. Leider war das mir zur Verfügung stehende Institutsmaterial zu alt, außerdem von unbekannter Fixierung, so daß sich die Glykogenverhältnisse nicht genauer verfolgen ließen. Soviel läßt sich aber mit Sicherheit sagen, daß zum mindesten ein Teil der im Fettgewebe aufgehäuften Reservesubstanzen — von denen Rauther (1907a) bei *Mermis* sagt, daß es sich bestimmt nicht um Fett handle, über deren chemische Natur er aber nicht ins klare kommen konnte — aus Glykogen besteht. — Prinzipiell die gleichen Verhältnisse wie bei *Ascaris* finden wir bei *Heterakis maculosa* aus dem Taubendarm. Auch hier findet sich reichlich Glykogen in den Seitenlinien der Subcuticula, den Markbeuteln, dem Oesophagus und dem Ovar[1]). — Bei *Ascaris*

[1]) Es läßt sich hier besonders gut die Anordnung des Glykogens innerhalb der kontraktilen Rinde der Muskelzellen beobachten (Fig. 24), auf welche Verhältnisse ja bereits oben des näheren für *Ascaris lumbricoides* eingegangen wurde.

megalocephala und *Ascaris mystax* findet man die gleichen Verhältnisse wie bei *Ascaris lumbricoides*. — Schließlich wurden noch *Polystomum integerrimum* und *Fasciola hepatica* einer Prüfung bezüglich ihres Glykogengehalts unterzogen. Ich fand hier reichlich Glykogen in der Muskulatur der Saugnäpfe, ebenso im Parenchym. Besondere Aufmerksamkeit schenkte ich den sogenannten Dotterzellen, mit Rücksicht darauf, daß nach Goldschmidts Untersuchung über diesen Gegenstand (1909a) diese »Dotterzellen« bei der Ernährung des Embryos »sicher keine Rolle spielen«, die »Dotterzellen« überhaupt keine Dotterzellen sind«. — »Von Dotter oder irgendwelchen andern Nährsubstanzen kann überhaupt nicht die Rede sein«, da speziell für den Dotter Goldschmidt mit Recht darauf hinweist, daß die in den Dotterzellen als solcher bezeichneten gelblichen Tröpfchen in allen Fettlösungsmitteln unlöslich sind. Goldschmidt kommt daher zu dem Schluß, daß die Dotterzellen das Material für die Schalenbildung liefern, jene gelben Tröpfchen eben Schalenbildungsmaterial darstellen. Goldschmidt bemerkt indessen selbst die Schwierigkeiten, die seiner Auffassung dadurch erwachsen, daß ja die »Dotterzellen« schließlich doch die Hauptmasse des zusammengesetzten Eies ausmachen, was, wenn ihre Funktion mit der Schalenbildung beendigt wäre, zwecklos erscheinen müßte. Er kommt daher selbst zu der Ansicht, daß den »Dotterzellen« außer der Schalenbildung noch eine andre Funktion zukommen muß, da sie sonst nicht am Aufbau des Eies teilnähmen«. — Die Frage wird geklärt durch die Prüfung der Glykogenverhältnisse. Da zeigte sich nun, daß sowohl bei *Polystomum* als bei *Fasciola* die »Dotterzellen« reichlich Glykogen enthalten, nicht nur vor ihrem Einschluß ins Ei, sondern auch dann noch, wenn die Schale bereits gebildet ist (Fig. 52, 53). (Von *Dicrocoelium* stand mir leider kein Material zur Verfügung. Ich kann jedoch zunächst nicht annehmen daß bei dieser *Fasciola* so nahe verwandten und unter den gleichen Verhältnissen lebenden Form die Verhältnisse prinzipiell anders als bei *Fasciola* liegen sollten.) — Die Tatsache, daß die Dotterzellen im fertigen Ei beträchtliche Mengen von Glykogen enthalten — daß es sich hier wirklich um Glykogen handelt, geht unzweifelhaft aus dem positiven Ausfall der Jod- und Speichelprobe hervor, — ist geeignet, die Bedeutung der »Dotterzellen« nunmehr zu klären. Einmal müssen wir ihnen wohl auf Grund der Goldschmidtschen Untersuchungen schalenbildende Funktionen zuerkennen, dann aber haben sie bei der Ernährung des Eies, bzw. des Embryos, eine wichtige Aufgabe zu erfüllen, indem sie als Träger nicht von Dotter, sondern von Reservekohlehydrat in Form von Glykogen fungieren.

b) Theoretischer Teil.

aa) Das Glykogen im Ascariskörper.

Wenn wir nun versuchen wollen, uns auf Grund der mitgeteilten Beobachtungen ein Bild von den Kohlehydratwanderungen im Körper von *Ascaris* zu machen, so müssen wir von der Tatsache ausgehen, daß die gesamte Nahrung von *Ascaris* per os aufgenommen wird und nicht etwa diffus durch die Körperoberfläche, wie z. B. bei den Cestoden, was, wie Weinland treffend bemerkt, als Beweis eines noch relativ schwach ausgebildeten Parasitismus zu betrachten ist. Die Nahrung wird — wenn wir zunächst nur die Kohlehydrate ins Auge fassen — im Dünndarm des Wirtes wohl zum überwiegenden Teil bereits in Form von einfachen Zuckern dargeboten, da bekanntlich die Di- und Polysaccharide der Nahrung, wie z. B. Rohrzucker, Stärke usw., schon einer Verzuckerung durch das Ptyalin des Speichels und die Diastase, Maltase usw. der Pancreas anheimgefallen sind. Wir müssen uns also vorstellen, daß der Hauptteil der aufgenommenen Nahrung bei *Ascaris* bereits aus Zucker besteht. Nach Passierung des nur als Pumpe wirkenden, zur Resorption wohl nur in sehr beschränktem Maße (s. oben) befähigten, Oesophagus gelangt der Zucker in den Darm und wird hier unter starker Beteiligung des Stäbchensaums, der, wie bereits oben erwähnt, durch Kapillarattraktion wirkend gedacht werden kann, in die Darmzellen befördert. Hier erfolgt nun die Synthese des Glykogens, die wie geschildert, sich in einigen Fällen als in nahen Beziehungen zu jenen stark lichtbrechenden Körnchen stehend erwies. Man wird geneigt sein, ebenso wie beim höheren Tier sich diesen Prozeß der Glykogensynthese als fermentativen Vorgang vorzustellen, was auch Cremer (1902) tut, also innerhalb der Darmzellen ein synthetisierendes Ferment anzunehmen. Dieser Auffassung scheint zunächst daraus eine Schwierigkeit zu erwachsen, daß innerhalb der Zellen, in ganz geringer Entfernung vom Ort der Synthese eine neuerliche Spaltung des Glykogens stattfindet, ein Vorgang, den wir uns konsequenterweise als an das Vorhandensein eines diastatischen, also antagonistisch wirkenden Ferments gebunden, betrachten müssen. Man sollte nun annehmen, daß zwei derartige entgegengesetzt verlaufende Prozesse innerhalb derselben Zelle nicht möglich seien. Demgegenüber sei auf die geistvollen Deduktionen Hofmeisters (1901) verwiesen, der an dem Beispiel der Leberzelle — die für uns deshalb auch gerade interessant ist, als sich in ihr teilweise dieselben Vorgänge wie in den Darmzellen von *Ascaris* abspielen — zeigte, wie solche Tatsachen gerade auf Grund der Wabentheorie des Protoplasmas in durchaus befriedigender Weise erklärt werden

können. — Indessen sind wir gar nicht einmal zur Annahme zweier antagonistisch wirkender Fermente in den Darmzellen von *Ascaris* gezwungen, wenn wir an die Umkehrbarkeit auch der fermentativen Vorgänge denken. Gerade für das Glykogen liegen derartige Beobachtungen vor, speziell für das der Hefe (Cremer 1902). Ein besonders schönes Beispiel für diese Verhältnisse aber bieten die Untersuchungen von Armstrong über die Synthese und Spaltungen von Maltose und Isomaltose durch Emulsin und Maltase (s. Darstellung bei Abderhalden 1909), auf deren Einzelheiten hier nicht eingegangen werden kann. Für uns ist nun zunächst die Frage von Interesse, ob bei dem Durchgang des Zuckers vom Darm durch das Darmepithel und weiter zu den übrigen Organen, innerhalb der Darmzellen unter allen Umständen eine Glykogensynthese stattfindet oder nicht. Zunächst müssen wir ja daran festhalten und werden noch weiter sehen, daß aus dem Darmepithel in das Pseudocölom niemals Glykogen austritt, sondern stets Zucker. Warum also erst diese Synthese, der die Spaltung auf dem Fuße folgt? Oder liegen die Verhältnisse anders, wird nur ein Teil des aufgenommenen Zuckers zu Glykogen polymerisiert, um eventuell als Reservematerial zu dienen und geht der andre größere Teil als Zucker durch die Darmzellen, mit andern Worten muß die Glykogensynthese im Darmepithel einfach zwangläufig erfolgen oder nicht und findet nur bei Überfluß an Nahrung und dann nur für einen Teil des Zuckers eine Glykogensynthese im Darm statt, oder stets? Man sollte annehmen, daß eine solche zwangläufig erfolgende Synthese zu sinnlos wäre, um ihre Annahme wahrscheinlich zu machen. Indessen liegen für die Fettresorption im Darm der Wirbeltiere Beobachtungen vor (s. z. B. Abderhalden 1909, Röhmann 1908), die denen fürs Glykogen bei *Ascaris* völlig analog sind. Die Resorption der Fette geschieht erst nach ihrer Verseifung in freie Fettsäure und Glyzerin, hierauf erfolgt die Resorption beider Komponenten und abermalige Zusammenschweißung im Darmepithel, beim Verlassen des Darmepithels vor Eintritt in die Chylusbahnen, dann nochmal die Spaltung und eventuelle Überführung der freien Fettsäuren in ihre entsprechenden Seifen. Also auch hier prinzipiell der gleiche Vorgang. Außerdem aber scheint mir auch für zwangläufige Glykogensynthese im Darm das wechselnde Aussehen der Darmzellen zu sprechen. Man sollte annehmen, daß, wenn es nur bei Überschuß an Nahrung zu einer Glykogenablagerung im Darm käme, man bei Tieren von reichlicher Ernährung stets Glykogen im Darm finden sollte und umgekehrt bei solchen von schlechter Ernährung nicht. Das ist nun aber nicht der Fall. Man trifft in dieser Beziehung vielmehr alle nur möglichen Übergänge. Ich glaube daher, daß die Glykogensynthese

im Darmepithel tatsächlich nach jeder Zuckerresorption zwangläufig erfolgt. — Wir hätten uns demnach diese Vorgänge etwa folgendermaßen vorzustellen: nach dem Durchtritt des Zuckers in die Darmepithelzellen setzt zwangläufig der Prozeß der Polymerisierung ein, indem zunächst in dem dem Lumen zugekehrten Teil der Zellen die Polymerisierung zu Maltose und Dextrinen vor sich geht, die sich morphologisch meist nicht nachweisen lassen. In dem mittleren Teil der Zellen schreitet der Prozeß bis zur Bildung von Glykogen fort. In dieser Richtung geht der Vorgang bis zu einem Maximum weiter, an welchem angelangt die Umkehrung erfolgt, die wieder zur Bildung des Ausgangsmaterials, nämlich Dextrose, führt. Diese kann alsdann die Grenzlamelle des Darmes in der Richtung zur Muskulatur passieren. Daher findet sich im Füllgewebe, wie bereits auseinandergesetzt, niemals Glykogen, sondern stets reduzierender Zucker. Es ist auch gar nicht denkbar, daß das Glykogen als solches zu den Organen geleitet wird, wenn wir uns daran erinnern, daß das Glykogen kolloidale Lösungen bildet, die durch tierische Membranen nicht diffundieren können. Von dem Füllgewebe aus können dann die einzelnen Organe ihren Bedarf an Zucker zur Glykogenbildung decken, wobei es speziell für den Oesophagus dahingestellt sein möge, ob dieser den Zucker durch das Füllgewebe oder direkt vom Darm bezieht. Wir sehen also, daß beim Abbau des Glykogens zweierlei Modi realisiert sind, einmal der, der nur dazu dient, das Glykogen in eine leicht diffusible und damit transportable Form zu bringen, nämlich der der Zuckerbildung, zweitens der der Gärung, d. h. Spaltung in Valeriansäure und Kohlensäure, der dem Tiere die zum Ablauf der Lebenprozesse nötige Energie liefert.

bb) Overtons Plasmahaut und Kohlehydratstoffwechsel.

In diesem Zusammenhange müssen wir noch auf eine Frage eingehen, die für uns von Interesse, nämlich die Art der Aufnahme des Zuckers durch die Zellen. — Bekanntlich verdanken wir den Untersuchungen von Pfeffer und Overton den Begriff der »Plasmahaut«. Besonders die Untersuchungen Overtons haben uns den Mechanismus der Resorption verständlich gemacht. Overton (1902) nimmt an, daß das Protoplasma der Zellen von der »Plasmahaut« begrenzt wird, einer Membran, die aus einer Lipoidsubstanz besteht, in welcher nach Overton die Lipoide der Zelle überhaupt lokalisiert sein sollen. Für die Resorption oder Nichtresorption eines bestimmten Stoffes durch die Zelle soll nun einzig und allein die Löslich oder Unlöslichkeit des betreffenden Stoffes in der lipoiden Plasmahaut maßgebend sein. Es ist zunächst klar, daß alle fettlösenden Agentien wie Äther, Chloroform, Alkohol usw. von der

Zelle aufgenommen werden müssen, da, wie Lipoide in ihnen, so auch umgekehrt sie in Lipoiden löslich sind. Overton erklärt hierdurch die Erscheinungen der Narkose. Wenn nun auch zugegeben werden muß, daß für viele Körper eine solche Erklärung annehmbar, so versagt sie doch da, wo es sich um die Erklärung der Aufnahme von Salzen und Zucker handelt. Da diese in Lipoiden unlöslich sind, ist es ohne Hilfsannahmen nicht verständlich, wie ihre Resorption erfolgt. Diese Schwierigkeiten sollten nun dadurch überwunden werden, daß man die an sich nicht kontrollierbare Annahme machte, solche Körper möchten erst in einen kolloidalen Zustand übergeführt werden, oder aber eine Eiweißverbindung eingehen, um so der Resorption durch die Zellen zugänglich gemacht zu werden. Mit Recht weisen daher Höber (1906) und Kanitz (Handb. d. Biochemie II, 1, 1910) darauf hin, daß die Overtonsche Theorie einer weitgehenden Modifikation zu unterziehen ist, insofern die Plasmahaut jedenfalls nicht nur aus Lipoiden bestehen kann und daß ferner innerhalb des Zelleibs sicherlich auch Lipoide vorkommen, diese also nicht nur in der Plasmahaut lokalisiert sind. Es scheint mir noch erwähnenswert, daß sich bei Behandlung tierischer Gewebe mit Osmium meines Wissens niemals — bei *Ascaris* jedenfalls sicher nicht — eine Schwärzung an den Stellen der mutmaßlichen Plasmahaut hat nachweisen lassen. Wenn natürlich auch der negative Ausfall der Osmiumreaktion kein Beweis gegen die Existenz einer Lipoidplasmahaut sein kann, so verdient jene Tatsache doch jedenfalls bei Beurteilung der Frage Berücksichtigung. — Gerade bei *Ascaris* aber kommen wir nun ohne Hilfsannahmen mit Overtons Theorie nicht aus. Haben wir doch gesehen, wie sich der ganze Stoffwechsel dieses Tieres gerade auf beständige Aufnahme und Abgabe von Zuckerlösungen gründet. Die Plasmahaut kann hier nicht die Natur eines Lipoids tragen, sie muß für Zuckeraufnahme befähigt sein und damit den Charakter einer permeablen Membran haben. Stellen wir uns z. B. vor, wie der Markbeutel einer Muskelzelle aus den ihn umgebenden Füllgeweben Zucker aufnimmt. Die Zuckerlösung diffundiert in den Markbeutel, wird hier zu Glykogen polymerisiert. Da diese Polymerisierung durch Anhydridbildung erfolgt, also Wasser frei wird, ist jetzt die Zuckerlösung im Füllgewebe der des Markbeutels gegenüber in bezug auf Zucker hypertonisch. Es muß abermals Zucker nach innen, Wasser nach außen diffundieren, wobei es dann wieder im Markbeutel zur Glykogenbildung kommt und so weiter, bis ein Gleichgewichtszustand erreicht ist. Diese Vorstellung über die Art des Mechanismus der Zuckerresorption durch einfache Osmose würde jedenfalls für unsern Fall den Vorzug haben, daß sie nicht mit unkontrollierbaren Hilfsannahmen zu operieren braucht.

cc) Form der Glykogenablagerungen und »Trägersubstanz«.

P. Ehrlich (1883) war in seinen Untersuchungen über das Vorkommen des Glykogens bei Diabetes und im normalen Organismus zu der Auffassung gekommen, daß das Glykogen in der Zelle an eine »Trägersubstanz« gebunden ist. Der Grund zu dieser Annahme war für Ehrlich darin gegeben, daß bei der Jodfärbung des Glykogens zunächst ein gelblicher, dann erst der braune für Glykogen charakteristische Färbton auftrat; umgekehrt beim Erwärmen oder Auflösen des Glykogens, auch wieder jene gelbe Farbe auftritt, was ihm für das Vorhandensein einer Grundsubstanz spricht. Dazu kommt, daß Ehrlich das Glykogen häufig an gelbliche kugelartige Plasmabildungen geknüpft, beobachten konnte. Besonders aber scheint für Ehrlich die Tatsache der ganz verschiedenartigen Löslichkeitsverhältnisse des Glykogens zugunsten einer Trägersubstanz zu sprechen. So sind z. B. Leber -und Muskelglykogen relativ leicht löslich, gegenüber dem schwerer löslichen Glykogen der geschichteten Epithelien und der Knorpels (Encyclopädie d. mikroskop. Technik, 1910). Ebenso sind, wie in der Löslichkeit des Glykogens verschiedener Tiere und Organe auch Unterschiede in der spezifischen Drehung der Ebene des polarisierten Lichtes durch das Glykogen vorhanden. Die verschiedenartige Löslichkeit des Glykogens suchte nun Ehrlich (1883) auf die verschiedene Löslichkeit der Trägersubstanz zurückzuführen. Neuerdings (Encyclopädie d. mikroskop. Technik, 1910) ist er wohl eher geneigt, die mehr oder weniger feste Bindung an die Trägersubstanz als Grund der verschiedenartigen Löslichkeitsverhältnisse anzusprechen. Über diese hypothetische Trägersubstanz scheinen in der Literatur bedenkliche Unklarheiten zu existieren. Man hat sich nämlich daran gewöhnt (Ehrlich, Barfurth, Gierke), die Existenz einer Trägersubstanz als erwiesen zu betrachten, wenn man in den Zellen nach Auflösung des Glykogens noch eine Substanz fand, die man als Träger ansprechen konnte. Nun soll aber doch gerade nach der ursprünglichen Anschauung Ehrlichs die Lösung der Trägersubstanz auch die des Glykogens im Gefolge haben, also müßte man durch Lösung des Glykogens keine Trägersubstanz darstellen können. Die neueste Ehrlichsche Auffassung über diesen Punkt, daß nämlich die Löslichkeit des Glykogens von der mehr oder minder festen Verbindung mit der Trägersubstanz abhängig ist, umgeht zwar diese Schwierigkeit, doch muß auch ich mich Cremer (1902) durchaus anschließen, der die Existenz einer solchen Substanz nicht als erwiesen betrachten kann. Ich konnte bei *Ascaris* keinerlei Anhaltspunkte für das Vorhandensein einer specifischen Trägersubstanz finden, da z. B. die

Bindung des Glykogens in dem Mark der vorderen Körpermuskelzellen an plasmatische Granulationen mir nicht in diesem Sinne verwertbar erscheint, weil die Plasmagranula jedenfalls nicht als »specifische Trägersubstanz« zu betrachten sind und selbst wenn man das wollte, ihr Vorkommen ja nur auf einen kleinen Teil der Muskulatur beschränkt ist. Dagegen sahen wir, daß das Glykogen innerhalb der Zellen häufig bestimmten Stützelementen, Fibrillen usw. adhärierend angetroffen wird, die man doch gewiß nicht als Trägersubstanz aufzufassen geneigt sein wird. Für *Ascaris* also scheinen die Verhältnisse jedenfalls durchaus nicht zu gunsten einer specifischen Trägersubstanz zu sprechen und da auch in allen übrigen Fällen die Existenz einer solchen zum mindesten recht zweifelhaft sein muß, scheint es richtiger, den Begriff der Trägersubstanz überhaupt fallen zu lassen, da sich die verschiedenen Löslichkeitsverhältnisse des Glykogens, wie mir scheinen will, auf andre Weise ungezwungener erklären lassen. — Da sich eine bestimmte Molekularformel für das Glykogen bisher nicht ermitteln ließ, bemerkt Abderhalden (1909) mit Recht, daß wir gar nicht wissen, ob wir es bei den aus verschiedenen Tieren gewonnenen Glykogenen stets mit ein und demselben Körper zu tun haben. Die verschiedene specifische Drehung des aus verschiedenen Tieren und Organen gewonnenen Glykogens scheint sogar direkt dafür zu sprechen, daß die Molekulargröße des Glykogens eben verschieden und dementsprechend auch vielleicht seine Löslichkeitsverhältnisse verschieden sein können. Wenn man dazu noch die Tatsache nimmt, daß das Glykogen bei seiner Ablagerung in der Zelle alle Übergänge von diffuser Form über körnige und schollige zu homogenen, die ganze Zelle ausfüllenden, Massen zeigen kann, wodurch eine sehr wechselnde Größe der angreifbaren Oberfläche für die Fermentation oder sonstige Lösungsmittel geschaffen wird, so scheinen mir diese durch Beobachtung wohl gestützten Tatsachen die verschiedenen Löslichkeitsverhältnisse des Glykogens genügend erklären zu können und es uns zu gestatten, ohne die kaum kontrollierbare Annahme einer specifischen Trägersubstanz auszukommen.

Nun muß man sich aber auch nicht vorstellen, daß in der lebenden Zelle das Glykogen in den kompakten Massen abgelagert ist, wie wir es im fixierten Bild sehen. Wir müssen wohl annehmen, daß die grobkörnige schollige oder strangförmige Gestalt, in der es uns oft im fixierten Bild entgegentritt, meist Fixationsprodukt ist. In der lebenden Zelle dürfte das Glykogen flüssige bis zähflüssige Konsistenz haben. Manche Bilder von Faden- oder auch strangförmiger Glykogenablagerung sind natürlich darauf zurückzuführen, daß hier das Glykogen Fibrillen oder

sonstigen Stützelementen adhärierend ausgefällt wurde. Bei *Ascaris* sind wohl alle Übergänge realisiert. Im Oesophagus, wo es oft in diffuser Form erscheint, dürfte es im Leben leichtflüssig sein, in den Seitenlinien und Markbeuteln etwa honigartige Konsistenz besitzen. Dagegen muß es in den reifen Eiern schon festere Form haben und zwar aus folgendem Grunde: Fichera (1904) konnte zeigen, daß die Art der Glykogenablagerung in den von ihm untersuchten Fällen nur Produkt der Fixierung war. Wenn er Stücke von glykogenhaltigem Gewebe in Würfel oder Pyramiden schnitt und in Alkohol warf, dann wurde das Glykogen so abgelagert, wie man es bei allseitig gleichzeitigem Diffundieren des Alkohols erwarten mußte, also z. B. bei einem Würfel in der Mitte in Form eines kleinen Würfels ausgefällt. Das Fixiermittel trieb das Glykogen gewissermaßen vor sich her. Wenn wir dem gegenüber die befruchteten *Ascaris*-Eier betrachten — bei denen wir zumal bei Durchmusterung größerer Mengen keinen Grund haben anzunehmen, daß die Fixierungsflüssigkeit ungleichmäßig eingedrungen sei, etwa nur von einer Seite, da ja keine Seite vor der andern begünstigt ist, — so finden wir nichts von alledem. Wir sahen, daß z. B. central in unmittelbarer Umgebung des zerfallenen Glanzkörpers eine erhebliche Lösung von Glykogen stattfindet. Ein solches Bild wäre bei leicht flüssigem Zustand des Glykogens in diesen Eiern auf Grund der Ficheraschen Versuche überhaupt nicht zu erklären. Wir sahen ferner jene eigentümliche massenhafte Anhäufung von Glykogen in der Umgebung der Richtungsspindel, ein Bild, das man recht häufig trifft. Auch dies ist bei Annahme eines leicht flüssigen Zustandes des Glykogens in diesen Eiern nicht erklärlich. Wir kommen also zu der Annahme, daß in den befruchteten Eiern das Glykogen tatsächlich eine zum mindesten sehr zähflüssige, wenn nicht gar feste Konsistenz haben muß, eine Tatsache, die auch deswegen von Interesse ist, weil ja innerhalb solcher Massen häufig die Bildung der Richtungsspindel erfolgt.

dd) Glykogen und Eireife.

Die Glykogenverhältnisse des Reifeies führen uns noch auf eine andre Frage. — R. Hertwig (1905) hat bekanntlich die Vermutung ausgesprochen, daß die Eireife durch einen Hungerzustand des Eies bedingt ist. Man kann aber angesichts der ungeheuren Massen von Glykogen, die das Reifei enthält, kaum annehmen, daß solche Eier sich im Hungerzustand befinden. Dagegen könnte man sich mit Hertwig und Popoff (1907) den Hungerzustand des Eies als dadurch zustandekommend denken, daß das Ei das Reservematerial nicht mehr verarbeiten kann. Zugunsten dieser Auffassung könnte man anführen, daß, wie wir

sahen, tatsächlich nach Eindringen des Spermatozoon in unmittelbarer Umgebung des zerfallenen Glanzkörpers ein starker Glykogenabbau stattfindet, das Spermatozoon also unzweifelhaft ein Glykogen spaltendes Agens (Ferment) dem Ei zuführt, wie bereits oben auseinandergesetzt wurde. Nun ist aber zu bedenken, daß es gelingt, durch Hungern reichlich glykogenhaltige unbefruchtete Eier so gut wie glykogenfrei zu machen, was eigentlich, wenn man dem Ei die Fähigkeit, sein Reservematerial zu verarbeiten, abspricht, nicht eintreten dürfte. Immerhin liegt der letztere Fall außerhalb des physiologischen Geschehens und man könnte daher bei der Wirkung solcher »force majeure« auch an »Ausnahmegesetze« im Zelleben denken.

ee) Glykogen und Kalkkörperchen der Tänien.

Bevor wir zu weiteren Betrachtungen übergehen, möge hier noch eine Bemerkung über die Kalkkörperchen der Tänien Platz finden. Bekanntlich findet man im Bindegewebe der Tänien Kalkkörperchen eingelagert, deren Bedeutung bisher dunkel war. Man könnte aber in den Glykogenverhältnissen dieser Tiere den Schlüssel zu einer Erklärung finden. Da bei *Taenia* die Glykogenzersetzung wohl in ganz ähnlicher Weise wie bei *Ascaris* verlaufen dürfte, haben wir auch hier das Auftreten von Kohlensäure und Fettsäure (Valeriansäure?) anzunehmen. Da nun die Aufnahme der Nahrung bei den Tänien diffus durch die Körperoberfläche erfolgt, im Gegensatz zu *Ascaris*, wo dies schon durch die dicke Cuticula unmöglich gemacht wird, kann man sich leicht vorstellen, daß auch ein Teil der vom Wirt mit der Nahrung aufgenommenen Salze, auch das unter anderm ja im Wasser und in Pflanzen reichlich vorhandene Calcium, nachdem es vorher durch die Salzsäure des Magens zum Teil in Calciumchlorid verwandelt worden ist, in das Parenchym der Tänien hineindiffundiert und auf diese Weise die, bei der Zersetzung des Glykogens frei werdende Kohlensäure an das Calcium gebunden wird. Ist diese Annahme richtig, so dürfen sich Kalkkörperchen nur da finden, wo auch Glykogen vorkommt. Nun fand Busch (1905), daß bei Tänien die Proglottiden reichlich Glykogen im Parenchym enthalten, der Scolex dagegen wenig oder keins. Das stimmt durchaus mit den Angaben über das Vorkommen der Kalkkörperchen überein. Merkwürdigerweise hat Busch diese Verhältnisse nicht untersucht. Es sei noch erwähnt, daß es mir durch Injektion von Calciumhydroxyd in lebende Ascariden gelang, im Gewebe der Seitenlinien ähnliche Kalkkörperchen künstlich zu erzeugen. Da das Calcium übrigens auch mit den Fettsäuren, vermutlich auch mit Glykogen — wenigstens für Barium ist dies von Stolc (1900) gezeigt

worden — leicht Verbindungen eingeht, ja diese in der Wärme sogar die Kohlensäure aus ihren Verbindungen zu verdrängen vermag, könnte man auch daran denken, daß jene Kalkkörperchen die Aufgabe hätten, die bei der Spaltung des Glykogens frei werdende Fettsäure zu neutralisieren, welche Annahme mir aber weniger wahrscheinlich erscheinen will.

ff) Das »Kernglykogen«.

Wenn wir uns nun der Frage nach dem Vorkommen von Glykogen in den Zellkernen zuwenden, so sei zunächst nochmals darauf hingewiesen, daß im Laufe meiner Untersuchungen auch nicht ein einziger Fall von Kernglykogen zur Beobachtung gelangte. Die Angaben R. Ehrlichs (1909) über das Vorkommen von Glykogen in Kernen der Darmzellen wurde bereits kritisch besprochen. — Während die meisten Beobachter, wie P. Ehrlich (1883), Barfurth (1885), Fichera (1904), Gierke (1905, 1907) und Arnold (1909a—c, 1910a u. b) übereinstimmend angeben, daß die Zellkerne stets frei von Glykogen sind, wurden neuerdings von den Pathologen verschiedentlich Fälle beschrieben, in denen Glykogen im Kern beobachtet wurde. Mir liegt eine Arbeit Kleestadts (1910) vor, die das ebenfalls beweisen soll, ja er will sogar den Austritt von Glykogen vom Kern ins Plasma beobachtet haben. Seine Fig. 3b und c sollen diesen Vorgang erläutern. Für den Cytologen unterliegt es keinem Zweifel, daß diesen Abbildungen Artefakte zugrunde liegen. Die Vorstellung und Abbildung, daß die Kernmembran sich öffnet, wobei sie die Gestalt einer 6 annimmt, um das Glykogen herauszulassen, ist denn doch gar zu unmöglich und hätte Kleestadt wohl selbst auf den Gedanken, daß hier ein Kunstprodukt vorliegt, bringen müssen. Wenn man bedenkt, daß die Fixierung von Kleestadts menschlichem Material (Leber) durchschnittlich etwa 24 Stunden nach dem Tode (!) erfolgte, so liegt auf der Hand, daß von solchem Material überhaupt keine Schlüsse gestattet sind. Wenn man ferner bedenkt, daß Kleestadt bei seinen Versuchen solche »Durchtrittsfiguren« künstlich zu erzeugen, in der Weise verfuhr, daß Kaninchen nach 4tägigem Hunger mehrmals mit Strychnin injiziert wurden, dann etwas Futter erhielten und schließlich die »arg mitgenommenen Tiere« entlebert wurden, so kann es wohl nicht weiter wundernehmen, daß Kleestadt schließlich auch einmal in einem einzigen Falle (von mir gesperrt, Ref.) zu einem positiven Resultat gelangte. Er fand in diesem Fall wirklich Kernglykogen, was ihn zu der optimistischen Auffassung führt, daß dieser einzige Fall zum Beweis dafür genügt, »daß weder der Befund von Glykogen in den Kernen, noch die Durchtrittsfiguren auf agonalen Vorgängen beruhen«. Daß in den Versuchen,

in denen Strychnin nicht verabfolgt worden war, sich Kernglykogen nie fand, scheint Kleestadt nicht auf den Gedanken zu bringen, daß seine Bilder eben auf Schädigung der Zellen infolge von Strychninvergiftung zurückzuführen sind. — Auf weitere Arbeiten der Pathologen über diesen Gegenstand einzugehen, liegt für mich kein Grund vor. Man darf aber wohl erwarten, daß die übrigen Angaben über das Kernglykogen etwas besser fundiert sind, sonst ist es jedenfalls schlimm um den Nachweis des Vorkommens von Glykogen in den Zellkernen bestellt.

gg) Arnolds Untersuchungen.

Wir müssen uns nun einer weiteren Kategorie von Arbeiten zuwenden, die sich mit den Glykogenablagerungen in der Zelle befassen. Es sind das die Untersuchungen Arnolds (1909 a—c, 1910 a u. b). Arnold, der auf dem Boden der Granulalehre steht, hat es unternommen, diese auf seine Befunde über die Morphologie des Glykogens der Muskulatur von Warm- und Kaltblütlern zu übertragen. Er glaubt den Nachweis geführt zu haben, daß die Granula der Muskulatur »an dem Glykogenumsatz in hervorragender Weise beteiligt sind«, daß das Glykogen an die Granula (Sarcosomen) gebunden ist. Diese Granula sollen einmal in longitudinalen Reihen entsprechend den interkolumnären Räumen angeordnet, dann aber auch in transversaler Richtung den Isotropenscheiben (I) aufgelagert sein. Nun sollen je nach dem Gehalt der Granula an Glykogen »netzförmige« Figuren zustande kommen, wie sie Arnold auch in einer Reihe von Figuren abbildet. Das scheint mir zunächst wenig wahrscheinlich, vielmehr dürfte es mit der Entstehung dieser netzförmigen Figuren eine etwas andre Bewandtnis haben. Arnold konnte nämlich durch Essigsäurebehandlung solche Netze isolieren, die dann selbstverständlich keine Spuren von Glykogen mehr enthielten, geschweige denn aus Glykogen bestanden (Arnolds Fig. 15 u. 16). Diese von Arnold selbst festgestellte Tatsache scheint mir für die Beurteilung seiner Ergebnisse von der größten Bedeutung. — Wenn wir nämlich die Koltzoffschen Untersuchungen (1906, 1908) über die Gestalt der Zelle in den Kreis unsrer Betrachtungen ziehen, so gelangen wir für die Muskelfasern der Wirbeltiere zu prinzipiell den gleichen Ergebnissen, wie sie kürzlich von Goldschmidt (1909/1910) für die *Ascaris*-Muskelzelle auf Grund eingehender Untersuchungen festgestellt worden sind. Goldschmidt beschreibt hier ein kompliziertes System von Stützfibrillen innerhalb des Sarcoplasmas der kontraktilen Rinde, das aber trotz aller Komplikationen nach einem einfachen einheitlichen Prinzip, das Goldschmidt als »Koltzoffsches Prinzip« bezeichnet, angeordnet sind. Dieses System von

Fibrillen bedingt einmal die Gestalt der Zelle und hat andrerseits die Aufgabe als Antagonist der Kontraktion zu wirken, indem es bestrebt ist, die durch die Muskelkontraktion bedingte Schlängelung der Fibrillen durch Streckung dieser wieder aufzuheben. Bezüglich weiterer Einzelheiten sei auf das Original verwiesen; für uns ergibt sich nur die überraschende Tatsache, daß ein Vergleich der Arnoldschen Abbildungen mit Goldschmidts Fig. 1, 5 und 19 die vollkommene Übereinstimmung beider Bildungen aufs klarste zeigt. Nimmt man hinzu, daß nach den Arbeiten Koltzoffs und Goldschmidts es als eine physiologische Notwendigkeit betrachtet werden muß, daß auch in andern Muskeln ein formbestimmendes und unter Umständen der Kontraktion entgegenwirkendes Element vorhanden sein muß, so ergibt sich aus alledem für uns, daß wir es bei den Arnoldschen Untersuchungen (vgl. hierzu auch die Arbeit Verattis [1902]) tatsächlich mit dem gleichen Stützfibrillensystem zu tun haben, wie es von Goldschmidt für die *Ascaris*-Muskelzelle eingehend beschrieben wurde. Nun konnte ich zeigen, daß in dieser das Glykogen wohl aus rein physikalischen Gründen (Plateaus Gesetz) jenen Stützfibrillen adhärierend in der kontraktilen Rinde sowie auch häufig im Markbeutel vorkommt. Genau das gleiche zeigen Arnolds Figuren, nur daß er auch hier die Erklärung in der Granulalehre sucht. Wie verhält es sich nun mit den Arnoldschen Granula? Es liegt ohne weiteres auf der Hand, daß bei solchen Fibrillennetzen, wie den geschilderten, an den Stellen der Kreuzungs- oder Knotenpunkte, da wo zwei Fibrillen miteinander verlötet sind, Verdickungen auftreten müssen, wie dies Goldschmidt in seinen Fig. 1, 5 und 19 auch abbildet. Aber auch Arnold muß etwas Ähnliches gesehen haben, wie aus seiner Fig. 16 hervorgeht. Nun konnte ich ferner zeigen, daß, wie ebenfalls aus physikalischen Erwägungen leicht hervorgeht, diesen Knotenpunkten besonders häufig Glykogen angelagert ist, selbst wenn die Fibrillen von Glykogen frei sind. Ich verweise nochmals auf Fig. 33, die das besonders deutlich für das blasige Gewebe des Seitenliniengewebes auf der Höhe des Nervenrings zeigt. Es ist klar, daß unter solchen Umständen der Eindruck einer granulären Bildung des Glykogens vorgetäuscht werden muß. Es ist weiterhin auch verständlich, daß auch ohne Anwesenheit von Glykogen oder nach Auflösung desselben jene Verlötungspunkte der Fibrillen einmal durch ihre beträchtlichere Eigenmasse, dann aber auch dadurch, daß außer Glykogen selbstredend sowohl Fett als eiweißartige Anlagerungssubstanzen in Betracht kommen, Veranlassung geben können, sie als Granula im Sinne Altmanns zu deuten. Von den hier entwickelten Gesichtspunkten aus ist für letztere Auffassung aber kein Grund gegeben,

woran auch der Umstand, daß die »Granula« durch vitale Färbung darstellbar sind, als durchaus mit der hier gegebenen Auffassung vereinbart, nichts zu ändern vermag. — Wir kommen also bezüglich der Arnoldschen Befunde zu der Auffassung, daß im Skelet wie im Herzmuskel der Warm- und Kaltblütler sich ähnliche, nach dem Koltzoffschen Prinzip angeordnete Skeletfibrillensysteme finden, wie bei *Ascaris*, daß längs dieser Fibrillen an ihnen wie in den Plateauschen Figuren adhärierend das Glykogen im Muskel fließt, wodurch die Bildung von Glykogennetzen hervorgerufen wird. Die Entstehung der von Arnold beschriebenen Granula (Plasmosomen) ist so zu denken, daß einmal die Verlötungsstellen der Fibrillen selbst die Existenz solcher Granula vortäuschen, dann aber auch diese Knotenpunkte erwiesenermaßen mit Vorliebe als Adhäsionscentra der verschiedensten Substanzen dienen und auf diese Weise Granulabilder zustande kommen können. — Zu einer prinzipiell gleichen Auffassung muß ich bei Beurteilung der Arnoldschen Untersuchungen bezüglich des Nierenglykogens (1910b) kommen, weshalb ich darauf nicht mehr eingehe. Ich kann mich auch in diesem Falle den übrigens auch vom physiologisch-chemischen Gesichtspunkt zum Teil recht anfechtbaren Spekulationen über die hypothetischen Funktionen der Granula, die in den Arnoldschen Untersuchungen durchaus die Rolle der »Bioplasten« Altmanns spielen, nicht anschließen.

hh) Holmgrens Untersuchungen.

Es ist vielleicht angezeigt, in diesem Zusammenhang auch auf die Holmgrenschen Untersuchungen über diesen Gegenstand einzugehen. Holmgren (1907, 1908) gelangt nämlich bei seinen Untersuchungen über Insektenmuskeln bezüglich der Granula zu ähnlichen Ergebnissen wie Arnold, nur daß nach seinen Beobachtungen den Granula noch eine viel bedeutendere Rolle im Stoffwechsel des Muskels zukommt, als Arnold das aus seinen Untersuchungen annehmen konnte. Uns interessieren nun zunächst die Angaben Holmgrens, daß seine interkolumnären Granula (»Qu-Körner«) »nicht Glykogen, sondern eine eiweißartige Substanz sein müssen«. Holmgren schließt das einmal daraus, daß er diese Granula mit der Bendaschen Methode darstellen konnte, ferner weil es ihm nicht gelang, mittels der Methoden von Ehrlich, Barfurth, Langhans und Lubarsch in den Muskeln Glykogen nachzuweisen. Dazu ist zunächst zu bemerken, daß zwar die Darstellung jener Granula mittels der Bendaschen Methode ihre glykogene Natur mit ziemlicher Wahrscheinlichkeit ausschließt, keineswegs aber ihre eiweißartige Natur beweist; es kann sich dabei ebensogut um fettartige Substanzen handeln (Fischer 1899).

Was nun den Glykogennachweis angeht, so hat Holmgren die zuverlässigste Methode, die uns zu diesem Zweck zur Verfügung steht, nämlich die von Best, überhaupt nicht angewandt. Sein negatives Resultat in dieser Richtung scheint also zunächst keineswegs beweiskräftig, besonders aber nicht, wenn man an die allgemeine Verbreitung des Glykogens auch in der Muskulatur der Wirbellosen denkt und berücksichtigt, daß in Insekten von verschiedener Seite beträchtliche Mengen von Glykogen nachgewiesen wurden, (v. Fürth 1903, Weinland 1906, 1907), die Annahme also sehr nahe liegt, daß ein Teil davon auf die Muskulatur entfällt. Nun ist noch zu erwähnen, daß über die chemische Natur jener Granula wie aus den Zitaten Holmgrens hervorgeht, eine bedenkliche Verwirrung herrscht. Nach Kölliker sollen sie »aus einem weichen Stoff bestehen, wie ihr Quellen in Wasser und Schrumpfen in Alkohol und Chromsäure beweist«, trotzdem sollen sie »ungemein schwer löslich« sein. Weiter: »quellen die Körner in Wasser ungemein . . . , hierbei . . . erleidet der Inhalt offenbar eine teilweise Lösung, ja in einzelnen Fällen schien derselbe ganz zu verschwinden«; nach Cajal (zitiert nach Holmgren) sind die Körner »sehr schwer löslich und ihr Inhalt kann durch Wasser aufgelöst werden«, wie letzteres zu verstehen ist, lasse ich dahingestellt. Aber auch Köllikers Angaben lauten ja sehr widersprechend. Für mich kann es keinem Zweifel unterliegen, daß beide Autoren zum Teil Glykogenkörner vor sich gehabt haben. Die Frage ist nun nur die, ob die von Holmgren geschilderten Granula mit denen Arnolds identisch sind. Holmgren selbst identifiziert beiderlei Bildungen vollkommen miteinander. Wenn diese Identifizierung berechtigt ist, so ergibt sich für mich bezüglich der Holmgrenschen Untersuchungen dieselbe Deutung, die ich den Arnoldschen zu geben gezwungen war. Immerhin scheinen mir zunächst noch einige Bedenken für eine solche Identifizierung vorzuliegen. Zunächst die unregelmäßige Anordnung der Holmgrenschen Körner, dann ihre anscheinend beträchtliche Größe (da Arnold die Vergrößerungen seiner Abbildungen nicht angibt, läßt sich in dieser Hinsicht ein Vergleich zwischen seinen und den Holmgrenschen Bildern schwer durchführen). Immerhin scheint es mir sehr wahrscheinlich, daß Holmgren zum Teil wenigstens Glykogenkörner vorgelegen haben, ebenso wie ich dies für einen Teil seiner »Trophospongien« weiter unten glaube nachweisen zu können.

ii) Glykogen und Muskelarbeit.

Am Schluß dieses Kapitels müssen wir schließlich noch mit wenigen Worten auf die Bedeutung des Glykogens für die Muskelarbeit zu sprechen

kommen. Es ist bekannt, wie lebhaft der Streit um die Quelle der Muskelkraft geführt worden ist, daß, nachdem Liebig das Eiweiß als Kraftquelle verantwortlich gemacht hatte, Fick und Wislicenus und besonders Voit zeigten, daß die Muskelarbeit auch auf Kosten der stickstofffreien Substanzen geleistet werden kann und daß schließlich Pflüger (1891) in seinen bekannten Versuchen zeigte, daß das Eiweiß die Quelle der Muskelkraft ist oder doch, wie wir heute sagen müssen, sein kann. Ohne auf die Kontroverse hier weiter einzugehen, muß es als sicher betrachtet werden, daß sowohl Eiweiß als Kohlehydrate wie auch Fett die Quelle der Muskelkraft sein können, wie denn auch Tigerstedt (Handbuch der Physiologie des Menschen von W. Nagel, Bd. I, 2. Hälfte, 1. Teil, 1906) sagt, »die Muskeln können also ihre Leistungen auf Kosten aller drei Hauptgruppen der organischen Nahrungsstoffe ausüben«. Speziell für *Ascaris* ist nach den Untersuchungen Weinlands eine andre Möglichkeit als die, daß hier das Glykogen die Energiequelle bildet, ausgeschlossen. Die minimalen Stickstoffausscheidungen, die Weinland (1903) an hungernden Ascariden festgestellt hat (15—20 mg per 100 g Tier pro Tag), wären, falls man als Quelle der Muskelkraft das Körpereiweiß verantwortlich machen wollte, viel zu niedrig, die beträchtliche Glykogenabnahme unverständlich. Jene geringen Mengen von Stickstoff rühren wohl von den Zelldegenerationserscheinungen, die Ehrlich (1909) im Darm beobachtet hat, her. — Nun bliebe freilich die Verwornsche Anschauung von der Biogenzersetzung, bei welcher der stickstoffhaltige Teil des Biogenmoleküls den stickstofffreien stets wieder regeneriert und so die Stickstoffausscheidung keine Erhöhung erfährt (1903). Ich glaube nicht, daß die Weinlandschen Beobachtungen, die die Beziehungen zwischen Glykogenverlust und gefundenen Zersetzungsprodukten völlig klargestellt haben, einen Anhaltspunkt für diese Anschauung bieten. Vielmehr hat man wohl mit Weinland (1901) und Rubner (1909) die durch die Spaltung des Nahrungsmaterials, in diesem Falle Glykogen, frei gewordene Energie als Quelle der Muskelkraft ebenso wie für die übrigen Leistungen der Zellen in Anspruch zu nehmen.

II. Das Fett.

a) Beschreibender Teil.

aa) Morphologie des Fettes.

Zur Darstellung des Fettes wurde das Flemmingsche Gemisch in der weiter unten angegebenen Modifikation angewandt, außerdem konte ich

mich an mit Sudan III gefärbten Gefrierschnitten davon überzeugen, daß im wesentlichen die so gewonnenen Bilder mit den durch Osmium fixierten übereinstimmten.

1. Oesophagus, Ovarien, Hoden, Füllgewebe und Cuticula

fand ich sämtlich frei von Fett. Während das für letztere beiden an sich weiter nicht merkwürdig ist, scheint die Tatsache, daß in den ersteren drei sich kein Fett findet, zunächst etwas befremdend. Von Interesse ist, daß also weder die »Dotterkugeln« des Spermatocyten, noch der aus ihnen hervorgehende Glanzkörper aus Fett besteht — wie bereits oben erwähnt. Wenn sich ferner weder in freien Eiern noch den Ovogonien Fett findet, so ist das mit ihrem Reichtum an Glykogen erklärt. Die Vermutung, daß die im Plasma der Ovogonien nach Carnoy-Fixierung typisch auftretenden Vacuolen (Fig. 3) einen fettigen Inhalt besitzen, ist also unzutreffend. Der Mangel an Fett innerhalb des glykogenreichen Oesophagus wird für spätere Betrachtungen noch von Bedeutung sein.

2. Darm.

Im Darmepithel konnte ich zunächst keine nur irgendwie ins Gewicht fallende Fettmengen feststellen. Erst nach wiederholtem Suchen fand ich solche in einigen wenigen Zellen. Das Fett fand sich hier in einigen Fällen in unmittelbarer Nähe des Kernes (Fig. 39a, b), in einigen andern ließen sich die Fettgranula gegen das Darmlumen zu bis etwa in die Mitte der Zellen verfolgen (Fig. 39b). Im Darmlumen fand ich niemals auch nur irgendwie in Betracht kommende Fettmengen. Nur vereinzelt sah ich hier und da winzige geschwärzte Körnchen, ich muß also bereits hier ausdrücklich betonen, daß ich eine Fettresorption in keinem Falle beobachten konnte, was für unsre späteren Betrachtungen von Wichtigkeit ist.

3. Nervensystem.

In den Nervenfasern konnten fettige Einschlüsse nicht beobachtet werden, dagegen erwiesen sich vereinzelt die Ganglienzellen als außergewöhnlich reich an durch Osmiumsäure schwärzbaren, also fettartigen Substanzen, wie ich im Gegensatz zu Goldschmidt (1910), der das Plasma der Ganglienzellen frei von irgendwelchen derartigen Einschlüssen fand, feststellen muß. Die Fig. 51 zeigt die Zelle Nr. 23 nach Goldschmidts Terminologie mit reichlichen Fetteinlagerungen, die ihr korrespondierende Zelle Nr. 24 zeigt genau die gleichen Verhältnisse. Der Natur dieser Substanzen bin ich nicht weiter nachgegangen. Als Nisslsche Substanz

dürften sie aber kaum aufzufassen sein, ebenfalls nicht als analog den von Goldschmidt (1910) in zwei Fällen in Ganglienzellen aufgefundenen Chromidial-Tigroidschleifen.

4. Muskulatur.

Innerhalb der kontraktilen Rinde der Muskelzellen konnte ich Fett nicht nachweisen, dagegen finden sich in den Markbeuteln Fettkügelchen, wenn auch in sehr geringen Mengen. Auf fettartige Vacuolen besonderer Natur, die sich in ganz typischer Art in unmittelbarer Umgebung der Muskelzellkerne befinden, komme ich noch weiter unten zu sprechen.

5. Seiten-, Rücken- und Bauchlinien.

In den vier Körperlinien fand ich stets beträchtliche Mengen von Fett. Nach der von mir angewandten Fixierung sind diese Gewebe mit völlig homogen erscheinenden schwarzen Kügelchen erfüllt (Photo 9), die nach ihrer homogenen Beschaffenheit zu schließen, ein sehr vollkommenes Reduktionsvermögen der Osmiumsäure gegenüber besitzen müssen. Von besonderer Wichtigkeit für uns ist die Tatsache, daß innerhalb des Excretionskanals sich niemals auch nur eine Spur von einer durch Osmium schwärzbaren Substanz vorfand.

6. Subcuticula.

Als Hauptstapelplatz des Fettes bei *Ascaris* müssen wir die Subcuticula ansehen. In diesem Gewebe finden sich ganz erhebliche Mengen an Fett in ganz typischer Anordnung, nämlich so, daß der der Cuticula anliegende Teil sehr fettreich ist und gegen die Muskulatur zu allmählich in dem Maße abnimmt, wie das Glykogen zunimmt so, daß am Grunde der Muskelzellen nur noch geringe Fettmengen vorhanden sind (Photo 10). Das Aussehen der Fettkügelchen entspricht völlig den der Seiten-, Rücken- und Bauchlinie, sie erscheinen völlig homogen geschwärzt.

bb) Die Beziehungen zwischen Glykogen und Fett.

Es war naheliegend, nachdem einmal das Vorhandensein größerer Fettmengen nachgewiesen war, daran zu denken, daß zwischen Glykogen und Fett Wechselbeziehungen vorhanden sein möchten, denen auf morphologischem Wege nachgegangen werden könnte. Es war daher wünschenswert Glykogen und Fett gleichzeitig zu fixieren. Zu diesem Zweck bot sich nur die Möglichkeit, die Fettfixationsmittel mit dem gleichen Volumen absoluten Alkohols zu verdünnen. Ich versuchte demgemäß 1%ige Osmiumsäure, Hermannsche Flüssigkeit und das starke Flemmingsche

Gemisch; die ersteren beiden erwiesen sich, mit dem gleichen Volumen absoluten Alkohols gemischt, als für die Fettfixation völlig unbrauchbar. Fett wurde nicht fixiert, da in diesen Fällen der Alkohol bereits die Osmiumsäure teilweise reduzierte. Dagegen hatte die starke Flemmingsche Lösung, mit dem gleichen Volumen absoluten Alkohols gemischt, den gewünschten Erfolg.

Fett und Glykogen wurden gleichzeitig fixiert, wobei man natürlich die Vorsicht üben muß, die Osmiumsäure nicht mit Wasser, sondern mit 50%igem Alkohol auszuwaschen, was ich durch etwa 48stündiges Belassen der Stücke in 50%igem Alkohol erreichte. Ob bei diesem Verfahren sämtliches Glykogen ungelöst bleibt, will ich zunächst dahingestellt sein lassen. Sicher ist, daß nach Röhmann (1908) das Ende der Fällung von Glykogen bei einer Konzentration des Alkohols von 55% erreicht ist. Sollte also wirklich die nur 50% enthaltende Flüssigkeit eine Lösung von Glykogen bewirken, so müßte sie sich in minimalen Grenzen halten. Es ist für uns aber auch zunächst gleichgültig, ob durch das angewandte Fixationsmittel (einen weiteren Vorzug desselben werden wir noch weiter unten zu erwähnen haben) alles Glykogen gefällt wird. Wichtig ist nur, daß es dadurch gelungen ist, einmal zwei so wichtige Zellbestandteile, wie Fett und Glykogen, gleichzeitig zu fixieren und ferner bezüglich der Zellfixierung die Vorzüge der Flemmingschen Lösung mit denen der Alkoholfixierung zu vereinen.

Um die Beziehungen zwischen Fett und Glykogen studieren zu können, konnten nur die Körperlinien und die Subcuticula in Frage kommen, da die übrigen Organsysteme keine oder zu geringe Fettmengen enthielten. Die typischen Lagebeziehungen beider Substanzen in der Subcuticula wurden schon erwähnt. Es fragt sich nun, ob sich rein morphologische Anhaltspunkte dafür finden ließen, daß beide in genetischem Zusammenhang stehen. In der Tat konnte ich eine ganze Reihe solcher Fälle in den Seitenlinien feststellen. Es fanden sich dort »Nester« von Glykogen, die gleichzeitig auch bedeutend reicher an Fett waren als das umgebende Gewebe (Photo 9). Das ganz typische Wiederkehren solcher Bilder von Glykogen und Fettnestern läßt es, glaube ich, als ausgeschlossen betrachten, daß es sich hier um ein zufälliges Zusammentreffen handelt. Vielmehr scheint hier eine Umwandlung des einen Körpers in den andern vorzuliegen, in welcher Richtung das geschieht, wird sich aus unsern folgenden Erörterungen ergeben.

b) Theoretischer Teil.

aa) Ist die Osmiumschwärzung im Ascariskörper durch Fett bedingt?

Bevor wir zur Erörterung der Frage nach den Beziehungen zwischen Fett und Glykogen übergehen, ist zunächst zu entscheiden, ob die mitgeteilten Befunde sich denn auch wirklich auf Fett beziehen, was zunächst als nicht absolut sicher erscheinen muß. Es liegt nämlich auf den ersten Blick die Annahme sehr nahe, daß die Reduktion der Osmiumsäure nicht durch echtes Fett, sondern durch die bei der Glykogenzersetzung gebildete Valeriansäure bewirkt sein könnte. Dem gegenüber muß folgendes bemerkt werden. — Wie wir sahen, kommen die Excretionskanäle der Seitenlinien in erster Linie für die Ableitung der gebildeten Valeriansäure in Betracht. Nun zeigte es sich aber, daß im Lumen dieser ausnahmslos keine Schwärzung durch Osmiumsäure auftrat. Ebenso fand sich in den Ovarien und im Oesophagus, wo doch ebenfalls Valeriansäurebildung erfolgen muß, keine Osmiumschwärzung, desgleichen nicht in den Markbeuteln der Muskelzellen. Dagegen erscheint einmal die Tatsache, daß die Sudan III-Reaktion auf Fett positiv ausfällt, sowie der Umstand, daß im Reagenzglas selbst konzentrierte Valeriansäure die Osmiumsäure des angewandten Flemmingschen Gemisches nicht reduziert (vermutlich wird ein Teil der etwa vorhandenen Valeriansäure durch den Alkohol des Gemisches esterifiziert), im Verein mit den oben angeführten Beobachtungen als Beweis dafür, daß die Osmiumschwärzung nicht durch die aus der Glykogenzersetzung hervorgegangene Valeriansäure bedingt sein kann. Schließlich ist noch zu bemerken, daß auch ein Vergleich der Mengenverhältnisse zwischen Glykogen und Osmiumschwärzung im mikroskopischen Bild schätzungsweise mit den Analysen Weinlands übereinstimmt. Weinland (1902) fand durchschnittlich 5,4% Glykogen, bezogen aufs frische Tier, dem stehen durchschnittlich 1,48% Fettgehalt (Ätherextrakt) des frischen Tieres gegenüber. Also rund viermal so viel Glykogen als Fett, was mit dem mikroskopischen Bild ungefähr übereinstimmt.

bb) Die Bedingungen der Osmiumschwärzung durch Fett.

Doch noch ein Punkt bleibt zu berücksichtigen, das ist die Zuverlässigkeit der Osmiumsäure, bzw. des Flemmingschen Gemisches, in bezug auf die Fixierung des Fettes. Bekanntlich beruht der Fettnachweis durch Osmiumsäure auf einer Reduktion dieser durch das Fett zu metallischem

Osmium. Nun konnte bereits Altmann (1894) nachweisen, daß Osmiumsäure nur von Olein — nicht von Palmitin und Stearinfett — reduziert wird. Starke (1895) konnte zwar diese Angabe bestätigen, fügte aber die wichtige Tatsache hinzu, daß auch andre Fette, wenn sie mit Osmiumsäure behandelt werden, sich schwärzen, sowie sie in Alkohol gebracht werden. Über die Natur dieses Vorgangs sind verschiedene Vermutungen geäußert worden, wegen deren Einzelheiten auf das Original, sowie auf die Encyklopädie der mikroskopischen Technik (1910), Art. »Fett« verwiesen sei. Starke stellte weiter fest, daß die Wirkung der Osmiumsäure verschieden ausfällt, je nachdem zur Nachbehandlung starker oder verdünnter Alkohol benutzt wird. Nur bei Verwendung schwachen Alkohols tritt vollständige Schwärzung ein, da starker Alkohol gleichzeitig fettlösende Eigenschaft besitzt, wodurch dann die sogenannten Ringkörner Altmanns entstehen. Wenn wir nun bedenken, in welcher Weise im vorliegenden Fall die Osmiumsäure angewandt wurde (1 Teil Flemming × 1 Teil abs. Alkohol, nachträgliche Behandlung mit 50%igem Alkohol), so ergibt sich ohne weiteres, daß eine solche Behandlung die allergünstigsten Bedingungen für die Fixierung des gesamten Fettes gewährleistet. — Auf Grund der Starkeschen Untersuchungen ist daher die Behauptung wohl gerechtfertigt, daß die erhaltene Ormiumschwärzung in der Tat nur von Fett (Äther-lösliche Substanz) herrühren kann, und außerdem durch diese Behandlung nicht nur ein Teil, sondern sämtliches Fett fixiert worden ist. Ich glaube daher an dieser Stelle nicht nur die beschriebene Methode als geeignet, Fett und Glykogen nebeneinander darstellen zu können, sondern auch zum einwandfreien »quantitativen« Nachweis des gesamten Fettes überhaupt angelegentlich empfehlen zu müssen. Man darf aber nur kleinere Stücke von nicht mehr als 5 mm Seitenlänge verwenden, da sonst leicht Lösungserscheinungen des Fettes durch den Alkohol (»Ringkörper«-Bildung) eintreten.

cc) Bildung und Bedeutung der Fettablagerungen.

Ist so die Fettnatur der sich durch Osmiumbehandlung schwärzenden Substanz erwiesen, so fragt es sich nunmehr, wie die Fettdepots im *Ascaris*-Körper entstehen. Wie wir bereits sahen, konnte Fett im Darm nur in Spuren nachgewiesen, eine eigentliche Fettresorption nie beobachtet werden. Nun könnte man dagegen einwenden, daß die Fettresorption ja eine Spaltung in freie Fettsäure und Glyzerin voraussetzt, beide Komponenten, vielleicht auch getrennt in Subcuticula und Körperlinien wanderten. Da aber die höheren Fettsäuren in freiem Zustande die Osmiumsäure ebenfalls reduzieren, müßte Darm und Füllgewebe auch entsprechende

Osmiumschwärzung enthalten, was, wie wir sahen, nicht der Fall ist. Es liegt also nicht der geringste Anhaltspunkt vor, daß eine irgendwie ins Gewicht fallende Fettresorption und Transport vom Darm in die Depots vorliegt. Dann aber bleibt, da fettige Degeneration in diesem Fall wohl ausgeschlossen ist, nur die Möglichkeit, daß das Fett aus Glykogen entsteht. Nun ist dieser Vorgang der Bildung von Fett aus Kohlehydraten für das höhere Tier heute eine feststehende Tatsache (Röhmann 1908, Abderhalden 1909), die Mästungsversuche mit Kohlehydraten haben das z. B. für Gänse, Schweine usw. einwandfrei erwiesen. Es ist aber zu bedenken, daß das höhere aerobe Tier auch jederzeit über die Mittel verfügt, das Fett völlig zu Kohlensäure und Wasser zu verbrennen. Wenn wir z. B. etwa die Verbrennung von Stearinsäure zu Wasser und Kohlensäure ins Auge fassen:

$$C_{17}\ H_{35}.COOH + 26\ O_2 = 18\ CO_2 + 18\ H_2O,$$

so sehen wir, daß bereits hierzu eine erhebliche Menge von Sauerstoff notwendig ist. Betrachten wir gar erst die Verbrennung von Neutralfetten, so steigen diese Werte noch um mehr als das Dreifache. Aus diesen Betrachtungen geht schon hervor, wie es kommt, daß der aerobe Organismus die Möglichkeit hat, das Fett als Nahrung zu benutzen. Nur ihm steht der nötige Sauerstoff zur völligen Fettverbrennung zur Verfügung. Nun ist *Ascaris* aber ein anaerober Organismus. Es ist also zunächst nicht einzusehen, wie *Ascaris* das abgelagerte Fett sich wieder nutzbar machen kann. Überdies konnte Weinland (1902) nachweisen, daß während des Hungerns kein irgendwie erheblicher Verlust an Fett (ätherlöslicher Substanz) eintrat, weshalb auch aus diesem Grunde eine Verbrennung des Fettes durch etwa von außen zugeführten Sauerstoff zunächst nicht wahrscheinlich ist. Immerhin ist es möglich, daß im Darm des Wirtes die Verhältnisse anders liegen als im Versuch, da geringe Mengen von Sauerstoff durch die Nahrung stets mitaufgenommen werden. Auffällig ist auch, daß das Fett der Cuticula unmittelbar anliegt und nach der Muskulatur zu abnimmt, so daß es also stets an der Stelle liegt, wo, falls Sauerstoff durch die Cuticula diffundiert, er zunächst auf das Fett träfe; es könnte das aber auch nur eine Wärmeschutzvorrichtung sein. Trotzdem aber scheint mir der Umstand, daß Weinland während des Hungers der Ascariden keinen Fettverlust nachweisen konnte, zu schwer wiegend, um solchen Vorstellungen größeren Raum zu gewähren. Ich hatte auf Grund der Weinlandschen Untersuchungen zunächst keinen Anlaß, den Fettstoffwechsel mit in den Kreis meiner Untersuchungen zu ziehen, wurde auch zu spät auf die Möglichkeit, durch die von mir

angewandte Methode, Fett und Glykogen gleichzeitig zu fixieren, aufmerksam. Sonst wäre es gewiß nicht ohne Interesse gewesen, die Beziehungen zwischen Fett und Glykogen während des Hungers weiter zu verfolgen.

Wäre es aber nicht denkbar, daß *Ascaris* umgekehrt auch das Fett wieder in Glykogen verwandeln könnte? Die Entstehung von Kohlehydraten aus Fett ist aber eine Frage, deren Lösung bereits für das höhere Tier erhebliche Schwierigkeiten bietet, und über die bisher eine Einigung noch nicht erzielt werden konnte. Man ist wohl geneigt (Cremer 1902), (Röhmann 1908), (Abderhalden 1909) diese Frage zunächst offen zu lassen, da zurzeit kein Beweis für die Bildung von Kohlehydraten aus Fett für das Tier vorliegt. — Aus einer einfachen Betrachtung der allgemeinen Formeln der Fettsäure und der Zucker (Fettsäure = $C_n H_{2n} O_2$, Zucker = $C_n H_{2n} O_n$) geht aber ohne weiteres hervor, daß zur Überführung von Fett in Zucker wiederum erhebliche Mengen von Sauerstoff nötig sind, dessen Beschaffung zwar für den aeroben Organismus keine Schwierigkeit bedeutet, wohl aber für den anaeroben wie *Ascaris*. — Wie also diese Fettdepots dem Haushalt des *Ascaris*-Körpers nutzbar gemacht werden, ist eine Frage, die zurzeit noch unbeantwortet gelassen werden muß. Eine interessante Tatsache ergibt sich aber noch aus den mitgeteilten Beobachtungen. Betrachten wir nämlich den Vorgang der Bildung von Fett aus Zucker, bzw. Glykogen, der, wenn wir der Einfachheit halber wieder nur die Stearinsäure in Rechnung setzen, nach folgendem Schema verläuft:

$$3\ C_6 H_{12} O_6 = C_{17} H_{35}.\ COOH + 8\ O_2,$$

so sehen wir, daß dabei beträchtliche Mengen von Sauerstoff frei werden. Nun wissen wir ja, daß *Ascaris* ein anaerober Organismus ist. Es wäre also von größtem Interesse, wenn neben dem bei *Ascaris* bei weitem überwiegenden anoxybiotischen Abschnitt des intermediären Stoffwechsels vielleicht noch ein kleinerer oxybiotischer Abschnitt eingefügt wäre. Man hätte sich dann vorzustellen, daß die Zellen des *Ascaris*-Körpers für gewisse Leistungen Sauerstoff benötigen und diesen auf die geschilderte Weise beschaffen, daß also in diesem Fall eine wirkliche »intramoleculare Atmung« stattfände. Anderseits wäre es auch denkbar, daß der frei gewordene Sauerstoff einfach nur von den Geweben festgehalten würde, um im Bedarfsfalle dazu zu dienen, das Fett zu Zucker zu oxydieren. Dann würde die Fettbildung so zu erklären sein, daß bei reichlicher Zufuhr von Kohlehydraten ein Teil derselben gewissermaßen um »Platz zu sparen«, in Form von Fett angelagert würde, ähnlich

wie dies fürs höhere Tier gilt[1]). Hier liegt noch ein Rätsel im Stoffwechsel von *Ascaris*, dessen Lösung nur eine auf diesen Punkt gerichtete eigne Untersuchung bringen kann, bei der die physiologisch-chemische Methode Hand in Hand geht mit den Methoden der Zellforschung im besonderen der mikrochemischen.

III. Stickstoffeinsparung durch Spermatozoenresorption des Uterusepithels bei Ascaris.

Haben wir bisher versucht, in die Morphologie des *Ascaris*-Stoffwechsels hinsichtlich der Kohlehydrate und des Fettes näher einzudringen, so bleibt uns noch übrig, einige Worte über das Verhalten des Stickstoffs zu sagen.

Die Stickstoffbestimmungen Weinlands hatten, wie wir sahen, ergeben, daß die Ascariden beim Hunger nur minimale Mengen von Stickstoff (11—15 mg per 100 g Tier und pro Tag) abgeben, wie wir ebenfalls sahen, können diese Mengen sehr wohl von den von Ehrlich (1909) beschriebenen Degenerationen im Darmepithel herrühren und brauchen nicht etwa für bei der Muskelarbeit zersetztes Eiweiß in Anspruch genommen werden. Es erhebt sich nun die Frage, ob *Ascaris* im erwachsenen Zustand überhaupt stickstoffhaltige Substanz resorbiert. Die Frage ist auf morphologischem Wege schwer zu lösen. Im Darmepithel frischer Tiere konnte ich Vorgänge, die auf Eiweißresorption schließen ließen, nicht beobachten, wenn wir von einer eventuell als solcher zu deutenden Auffassung der Darm-»Chromidialstränge« absehen. Dagegen kommt für weibliche Tiere eine Art der Aufnahme stickstoffhaltiger Substanz zur Beobachtung, die sicher weiter verbreitet ist, als man zunächst annehmen mag, nämlich die Resorption von nicht zur Befruchtung gelangten Spermatozoen durch das Uterusepithel. — Bereits frühere Autoren hatten einen Teil der hier zu schildernden Vorgänge beobachtet, aber wohl falsch gedeutet. Scheben (1905) hatte beobachtet, daß die

[1]) Anmerkung: Man darf hierbei allerdings nicht vergessen, daß — zum mindesten beim höheren Tier — die Bildung von Fett aus Kohlehydraten in andrer Weise verläuft. Hanriot drückte den Vorgang, unter der Annahme, daß das Fett ein Oleostearopalmitin ist, durch folgende Gleichung aus:

$$13\ C_6\ H_{12}\ O_6 = C_{55}H_{104}\ O_6 + 23\ CO_2 + 26\ H_2\ O.$$

Es wird also dabei CO_2 gebildet und kein Sauerstoff frei, d. h. der respiratorische Quotient zu gunsten von CO_2 verschoben. Demnach ist es denkbar, daß auch bei *Ascaris* der Vorgang in dieser Weise verläuft, obgleich die Weinlandschen CO_2-Bestimmungen für diese Annahme keine Unterlage bieten.

Spermatozoen den Zottenzellen des Uterusepithels oft rosettenförmig ansitzen, (s. Schebens Fig. 44), oft auch in die Zottenzellen einwandern, um sie dann angeblich mit Reservestoffen prall gefüllt wieder zu verlassen. Marcus (1906) und Mayer (1908) haben den Vorgang nicht weiter verfolgt. Letzterer kommt jedoch bereits zu dem Schluß, daß die den zottenförmigen Fortsätzen des Uterusepithels anhaftenden Spermien ihren Glanzkörper sekundär verloren haben. Sie sind Degenerationsprodukte von nicht zur Befruchtung gelangten Spermatozoen. — Ich konnte nun mit aller Sicherheit beobachten, daß die Schebensche Darstellung der Verhältnisse unrichtig ist, daß diese Zottenzellen nicht etwa den »Cytophoren«, die der Ernährung der Spermatozoen dienen und verschiedentlich beschrieben wurden (Korschelt und Heider 1902), entsprechen, sondern daß im Gegenteil die Spermatozoen einer regelrechten Phagocytose durch das Uterusepithel anheimfallen. Die Spermatozoen gelangen in die durch die Zotten bedingten Falten der Uteruswandung. Die Zotten legen sich dann mit ihren freien Enden aneinander, so daß die Spermatozoen auf diese Weise eingeschlossen werden (Fig. 34, 35, 37). Nunmehr beginnt zunächst die Auflösung des feinwabigen Plasmas, in dem der Kern liegt, so daß es vorkommt, daß man in den Uterusfalten freie Spermatozoenkerne findet (Fig. 35, 37), daneben die Residua des Plasmas, sowie alle Übergänge zwischen noch intakten und fast ganz aufgelösten Glanzkörpern (Fig. 34, 35, 37). Es kommt aber auch vor, daß man innerhalb des Plasmas der Zottenzellen in Auflösung befindliche Glanzkörper findet (Fig. 34, 36 a). Es scheint also nicht nur »extracelluläre« Verdauung der Spermatozoen, sondern auch intracelluläre, wie wir sie z. B. bei allen Protozoen, Spongien und manchen Würmern sehen, vorkommen zu können. Über den Mechanismus dieses Vorgangs geben vielleicht Bilder, wie Fig. 36 a, b Aufschluß. An den freien Enden der Zottenzellen löst sich die Plasmahaut. Das Plasma fließt dann unter Bildung pseudopodienartiger Fortsätze vor (Fig. 36 a, b) und mag auf diese Weise wohl auch die Spermatozoen umfließen und aufnehmen, wie eine Amöbe das tut. Ähnliche Erscheinungen wurden bereits von A. Schneider (1866) und Scheben (1905) beobachtet, aber in der Weise gedeutet, daß diese Vorgänge eine Schleimsecretion vorstellen. Ich möchte die Möglichkeit dieser Deutung keineswegs in Abrede stellen, da den Uterusepithelzellen sicherlich auch secretorische Bedeutung zukommt, ihre phagocytäre Funktion ist aber jedenfalls sichergestellt. Wir sehen in diesem Verhalten prinzipiell das gleiche, wie es weiter oben auch für die Wandungszellen des Vas deferens geschildert wurde. Wie jene die »Zwischenkörperchen« resorbieren, nehmen hier die Zottenzellen die Sperma-

tozoen auf. — Man bemerkt im Plasma der Zottenzellen häufig noch große Mengen stark lichtbrechender Körnchen von der Größe etwa eines Spermakerns (Fig. 34). Man könnte zunächst daran denken, daß sie Kernresidua gefressener Spermatozoen seien. Ihre große Menge scheint aber dieser Deutung nicht eben günstig. Ihre Bildung habe ich nicht weiter verfolgt; es ist aber sicher, daß sie nicht etwa ausgestoßenes Chromatin der Kerne der Zottenzellen darstellen, da sich nicht die geringsten diesbezüglichen Beziehungen feststellen ließen.

Es kann hier die Frage auftauchen, wie es möglich ist, daß, wenn die Uteruszellen die Spermatozoen tatsächlich verdauen, die Eier von dieser Verdauung verschont bleiben. Da ist es nun von Interesse, daß auch das in den Wirtsmagen und Darm eingeführte *Ascaris*-Ei, bzw. das heranwachsende Tier gegen die peptischen und tryptischen Wirkungen des Wirtsorganismus geschützt sein muß. In der Tat konnte Weinland (1902b) das Vorhandensein eines Antipepsins und Antitrypsins bei *Ascaris* feststellen. Dann aber ist klar, daß das Ei innerhalb des eignen Organismus vor dem Schicksal des Verdautwerdens sich durch solche Einrichtungen ebenfalls schützen kann[1]).

---

[1]) In einer soeben in Hft. 2, Bd. VI, des Arch. f. Zellforschung erscheinenden Arbeit von Romieu (1911) schildert Romieu die Spermiogenese von *Ascaris megalocephala*. Ich konnte zu meiner Freude feststellen, daß Romieu in fast allen den Punkten, in denen seine und meine Untersuchungen sich berühren, zu den gleichen Resultaten wie ich gelangt. So in der Frage der Glanzkörperbildung, der phagocytären Funktion der Uteruszellen und in einigen Punkten von untergeordneter Bedeutung. Nur in zwei Fragen kann ich nicht mit Romieu übereinstimmen. Romieu kommt am Schluß seiner Mitteilungen über die phagocytäre Bedeutung der Zottenzellen auf Grund seiner Beobachtung, daß, auch ohne daß die Spermatozoen jemals einen Kontakt mit den Zottenzellen eingehen, Degeneration der Spermatozoen eintritt, zu der Anschauung, daß dies «semble indiquer l'absence d'une action digestive ou dégénerative de la part de la cellule à villosités». Dieser Schluß ist mir ganz unverständlich, wo wir doch wissen, daß bei Metazoen fast ausschließlich »extracelluläre« Verdauung vorkommt (Weinland, Handb. d. Biochemie, Bd. III, 2, 1910), also ein Kontakt der aufzunehmenden Nahrung mit den verdauenden und resorbierenden Zellen durchaus nicht nötig ist. Ja mir scheint eher der umgekehrte Schluß richtig. Weil die Spermatozoen auch ohne Kontakt mit den Uteruszellen degenerieren, muß man an eine verdauende Wirkung dieser Zellen denken. — Ferner kommt Romieu zu dem Schluß, daß der Glanzkörper «ne joue aucun rôle actif dans la fécondation, il disparaît en jouant tout au plus un rôle nutritif pour l'œuf». Ich glaube oben wahrscheinlich gemacht zu haben, daß wir dem Glanzkörper doch eine größere Bedeutung beimessen müssen. Allein schon seine große Masse und der Umstand, daß er regelmäßig ganz mit ins Ei übernommen wird, im Verein mit den oben angeführten Beobachtungen, deutet darauf hin, daß er eine wichtigere Rolle spielt, als Romieu geneigt ist ihm zuzubilligen.

IV. Chromidialapparat, metachromatische Stränge und Kern.

Es war klar, daß ich bei Verfolg der Stoffwechselmorphologie im *Ascaris*-Körper auf Schritt und Tritt jenen Bildungen begegnen mußte, die Goldschmidt (1905) unter dem Namen des »Chromidialapparats« beschrieben hatte. Es mußte auch mit zu meiner Aufgabe gehören, den Versuch zu machen, über Natur und Funktionen dieser Bildungen und ihren eventuellen Beziehungen zum Glykogen Aufschluß zu erhalten, zumal als von Vejdovsky (1907), besonders aber von Bilek (1909, 1910a, b) der als gescheitert zu betrachtende Versuch unternommen wurde, jene Bildungen als Kunstprodukte mißhandelter Stützfibrillen aufzufassen. Die Lehre vom Chromidialapparat der Metazoenzelle hat inzwischen eine größere Anzahl von Untersuchungen über diesen Gegenstand gezeitigt und es wird sich als notwendig erweisen, auf einen Teil dieser, ebenso wie auf die Anschauung jener Autoren, die die chromidiale Natur der fraglichen Bildung bestreiten, kurz einzugehen. — Ich werde dabei im folgenden für die Verhältnisse bei *Ascaris* den Goldschmidtschen Terminus »Chromidialapparat« fallen lassen, da die betreffenden Strukturen diese Bezeichnungen, wie wir weiter unten sehen werden, nicht verdienen; statt dessen habe ich nach dem Vorschlage Guilliermonds (1910), der auf Babes (1895) zurückgeht, und dem sich Erdmann (1910) anschließt, den nichts vindizierenden Ausdruck »metachromatische Stränge« gewählt. Im folgenden sind also die Bezeichnungen Chromidialapparat und metachromatische Stränge für die Verhältnisse bei *Ascaris* als Synonyma anzusehen.

a) Beschreibender Teil.

aa) Die normale Form der Ausbildung der metachromatischen Stränge.

In diesem Kapitel soll zunächst beschrieben werden, in welcher Weise man die von Goldschmidt als Chromidialapparat bezeichneten Strukturen im *Ascaris*-Körper ausgebildet findet, wenn man frisch dem Wirtsdarm entnommene Tiere oder doch solche Tiere untersucht, die nicht mehr als einen Tag gehungert haben. Die Art und Weise des Vorkommens jener Bildungen unter abnormen Verhältnissen, wie andauernder Hunger, elektrischer Reizung usw., sollen besonders besprochen werden.

1. Oesophagus.

Bezüglich des Baues des Oesophagus verweise ich auf die oben gegebenen und die eingehenden Darstellungen K. C. Schneiders (1902)

und Goldschmidts (1905). Wenn wir mit der Schilderung der Verhältnisse bei den Flächenzellen beginnen, so sehen wir um die Kerne dieser die bereits besprochene konzentrische Plasmazone. An diese schließt sich das fein wabige Plasma an. In diesen liegen nun jene Stränge in allen nur denklichen Windungen und Verschlingungen in den verschiedensten Stärken von feinen Fadenkörnchen bis zu dicken keulenförmigen, deren Durchmesser etwa bis zu ein Viertel des Kerndurchmessers betragen kann, durcheinander (Fig. 48, Photos 11, 12, 13). Über die Art des Verlaufs der Stränge läßt sich folgendes sagen: Wenn die Flächenzelle, wie das häufig vorkommt, bruchsackartig in die lacunären Räume hineinhängt, oder gar von den übrigen Zellteilen abgeschnürt in einem solchen liegt (Fig. 48), dann scheint der Verlauf der Stränge völlig regellos zu sein. Anders, wenn die Flächenzelle bzw. deren Kern ihre Lage innerhalb der ganzen Bildungszelle bewahrt hat (Fig. 8 und Photos 11, 12, 13). Man gewinnt dann den Eindruck, daß wohl ein Teil der Stränge mehr oder weniger regellos in unmittelbarer Umgebung des Kernes liegt, daß aber ein andrer Teil der Zugrichtung der Muskelfibrillen folgend sich parallel zu letzteren anordnet. Wie denn überhaupt häufig zu bemerken ist, daß die metachromatischen Stränge die Muskelfibrillen auf weite Strecken begleiten. Wenn auch zugegeben werden muß, daß in der Umgebung des Kernes die Stränge am zahlreichsten sind, so muß doch betont werden, daß man einzelne von ihnen auch dicht an der inneren Cuticula oder in beträchtlicher Entfernung vom zugehörigen Flächenkern nach vorn oder hinten zu findet. Niemals aber kommt es vor, daß ein solcher Strang an der inneren Cuticula oder der äußeren Grenzlamelle inseriert. Die vollkommene Unabhängigkeit dieser Bildungen von irgendwelchen stützenden Elementen geht aus direkter Beobachtung beider Zellbestandteile nebeneinander unmittelbar hervor (Fig. 8 und Photos 12, 13). Ich komme auf diesen Punkt noch weiter unten zurück. Was weiter die Färbbarkeit der Stränge mit Chromatinfarbstoffen betrifft, so kann ich nicht finden, daß »sie gewöhnlich denselben Farbton annehmen, wie das Chromatin«, wie Goldschmidt (1905) angibt. Bei Weigert-Heidenhain-Färbung färbt sich das Chromatin der Kerne schwarzblau, die Stränge rötlich violett (Fig. 48). Nach Differenzierung mit van Gison erscheinen sie häufig fast rein gelb (Photo 11), gegenüber dem Blauschwarz des Chromatins. Doch schon gewöhnliche Delafield-Färbung läßt deutliche Differenzen in Farbton und Tiefe zwischen beiden erkennen. Goldschmidt (1905) selbst weist auf die differente Färbung beider Zellbestandteile nach Anwendung der Methode von Heidenhain mittels Hämatoxylin — chromosaurem Kali hin. Hervor-

ragend schöne Bilder liefert die Bendasche Mitochondrienfärbung und die Triacidfärbung nach Ehrlich. Bei ersterer nehmen die Stränge den bekannten blau-violetten Ton an (Photo 12), das Chromatin des Kernes zeigt blau-violette und braune Färbung. Ich habe die Methode des ferneren nicht mehr häufig angewandt, da sie den Übelstand besitzt, die heterogensten Zellbestandteile in völlig gleichem Ton zu färben. Ich komme unten hierauf noch zurück. Vortreffliche Bilder dagegen lieferte die Triacidfärbung. Hierbei zeigte das Kernchromatin einen braunen, schwach ins grünliche gehenden Ton, die Stränge dagegen nehmen eine dunkelblau-violette Färbung an (Photo 13). Man sieht, daß alle genannten Färbungen das gemeinsam haben, daß sie differente Färbung von Chromatin und metachromatischen Strängen zeigen. — Wie steht es nun mit der Eigenstruktur dieser Stränge? Goldschmidt (1905) beschrieb eingehend eine vacuolige Struktur, die durch Einlagerung schwächer färbbarer Substanz in die stark chromatische Grundmasse bedingt sein soll. Ich konnte zwar solche Bilder in genau der gleichen Weise wie Goldschmidt beobachten, merkwürdigerweise aber nur bei Sublimatfixation (Schaudinn) und da Goldschmidt anscheinend nur Sublimatmaterial verwandt hat, muß er selbstverständlich zu der Auffassung kommen, daß jene Struktur die normale ist. Dagegen konnte ich derartige Bilder nach Fixierung mit Carnoy, Benda oder Flemming niemals beobachten. Nach diesen Fixierungsmitteln erschienen die metachromatischen Stränge stets durchaus homogen (Fig. 8, 48 und Photos 11, 12). Ich bin also geneigt, entweder die eine oder die andre Form als Kunstprodukt anzusehen und da mir diese Struktur stets nur nach Sublimatfixation zu Gesicht kam, glaube ich die Bedingung für ihr Entstehen eben in letzteren Fixierungsmitteln sehen zu müssen. Goldschmidt glaubte, daß die von ihm beobachtete vacuolige Struktur der Stränge als Zerfallsbilder aufzufassen seien. Da ich mich dieser Auffassung, wie gesagt, nicht anschließen kann, ist die Frage, ob sich Bilder, die auf Zerfall der Stränge deuten, überhaupt nicht finden lassen. In der Tat habe ich lange vergebens nach solchen gesucht und kann auch jetzt noch nicht sagen, ob ein solcher Zerfall sich morphologisch mit Sicherheit nachweisen läßt. In einigen wenigen Fällen glaube ich Zerfallserscheinungen beobachtet zu haben. Einen solchen stellt Fig. 48 dar. Man sieht in solchen Präparaten kristalloide Körper auftreten, von denen sich in einigen Fällen mit Sicherheit nachweisen läßt (Fig. 48), daß sie von den metachromatischen Strängen ihren Ursprung nehmen. Ich muß aber nochmals betonen, daß solche Bilder sehr selten sind. Nun ist für uns weiter von Interesse die Frage, ob die Stränge irgendwelche Be-

ziehungen zum Kern erkennen lassen. Bereits Goldschmidt (1905) gab ganz richtig an »ganz frei von ihnen (den Strängen) bleibt immer nur die konzentrisch geschichtete Zone um den Kern, falls sie vorhanden«. Diese soll nach Goldschmidt bei reichlicher Ausbildung der metachromatischen Stränge nie fehlen, verschwindet aber, wenn die Zellen nur wenig Stränge enthalten.

Ich habe eine solche Gesetzmäßigkeit nicht beobachten können, fand vielmehr, daß diese Zone auch bei starker Ausbildung der Stränge fehlen kann. Sicher ist, daß sie bei Hungerzuständen verschwindet. Im übrigen ist ihr Vorkommen die Regel. Goldschmidt fand nun in Fällen, wo jene Zone fehlte, Beziehungen zwischen Kern und metachromatischen Strängen. Er sieht die Oberfläche der Kernmembran mit stark färbbaren Kügelchen, Chromatinpartikeln besetzt, kurz, glaubt hier Beziehungen der Art vor sich zu haben, daß die aus dem Kern ausgetretenen Chromatinpartikeln für die Bildung des »Chromidialapparats« verantwortlich zu machen sind. Ich muß dem gegenüber betonen, daß ich keinen einzigen Fall beobachten konnte, in welchem man mit Sicherheit einen Chromatinaustritt hätte feststellen können. Wohl ist es auffällig, daß die metachromatischen Stränge meist besonders reichlich in der Umgebung des Kernes auftreten. Das allein aber kann ihre karyogene Herkunft unter keinen Umständen beweisen, zumal da auch die ungeheuren Mengen der Stränge, deren Masse nach oberflächlichen Schätzungen oft etwa das 50fache der des Kernes erreichen dürfte, eine Abstammung des Chromatins vom Kern in hohem Grade unwahrscheinlich machen. — Noch wenige Worte über die Verbreitung der besprochenen Bildungen im Oesophagus. Goldschmidt (1905) gibt an, daß ein »gänzliches Fehlen bei *Ascaris lumbricoides* normalerweise an guten Präparaten nie zu konstatieren war«. Im Laufe der Untersuchungen kamen mir aber einige wenige Fälle zu Gesicht, bei denen in der Tat nichts von metachromatischen Strängen zu sehen war. Im übrigen konnte ich alle Übergänge von ganz schwacher bis zur stärksten Ausbildung beobachten. Wir werden auf diesen Punkt weiter unten noch näher eingehen.

Eins bleibt aber hier noch zu besprechen, nämlich das Vorkommen der metachromatischen Stränge in den Kantenzellen. Goldschmidt hat sie in diesen niemals beobachten können und meint, daß sie hier überhaupt nicht vorkommen. Aber auch hier stellte sich im Laufe meiner Untersuchungen heraus, daß sie in diesen Zellen doch, wenn auch sehr selten vorkommen. Ich konnte sie in den Oesophagi von zwei Tieren beobachten. Fig. 28 stellt eine der drei letzten Kantenzellen nahe dem caudalen Ende des Oesophagus dar. Ich bemerke, daß alle drei zusammengehörigen

Zellen dasselbe Verhalten zeigen. Man sieht die Stränge in der gewöhnlichen Weise angeordnet und bemerkt gleichzeitig ihr merkwürdiges färberisches Verhalten (es handelt sich um gewöhnliche Delafield-Färbung). Während der Kern den bekannten blauvioletten Ton angenommen hat, sind die metachromatischen Stränge rot gefärbt. — In dem zweiten beobachteten Fall handelt es sich um drei Kantenzellen aus dem vorderen Abschnitt des Oesophagus. Auch hier zeigen die drei zusammengehörigen Zellen genau dasselbe Verhalten (Fig. 32). Selbstverständlich handelt es sich auch hier nicht etwa um irgendwelche Stützelemente, da Insertionen nicht vorhanden sind, die wurst- oder nudelförmigen Stränge vielmehr wie auch sonst frei im Plasma liegen.

2. Muskulatur.

aaa) Körpermuskelzelle.

In bezug auf die Häufigkeit des Vorkommens der metachromatischen Stränge innerhalb der Körpermuskelzellen stimme ich vollkommen mit Goldschmidt überein. Man bekommt in den meisten Fällen überhaupt nichts davon zu sehen. Nur vereinzelt treten Muskelzellen auf, in denen die Stränge zu finden sind und auch dann nur in unvergleichlich geringerer Zahl als in der Oesophagusmuskulatur. Ich konnte in den Körpermuskelzellen der mittleren Körperregion in keinem einzigen Fall auch nur eine einzige Spur der Stränge finden. In einigen Fällen dagegen fand ich sie in den Körpermuskelzellen der Kopf- und Schwanzregion, in letzterer besonders beim Männchen. Photo 1 zeigt die Verhältnisse bei einer Körpermuskelzelle der Kopfregion. Das Photogramm ist von einem Goldpräparat Prof. Goldschmidts angefertigt und zeigt deutlich die metachromatischen Stränge neben den Skeletfibrillen. Über die Art der Ausbildung ist nicht viel Neues zu sagen. Zahl und Volumen der Stränge sind, wie gesagt, bedeutend geringer als im Oesophagus, die Anordnung und das färberische Verhalten etwa wie dort. Einen Austritt von Chromatin aus dem Kern oder irgendeine Andeutung, daß sich die metachromatischen Stränge aus diesen bilden, habe ich auch hier nicht beobachten können, ebensowenig einen Zerfall oder vacuolige Struktur der Stränge. Erwähnt sei noch, daß es sich aus den gleichen Gründen wie beim Oesophagus auch hier nicht um eine Stützstruktur irgendwelcher Art handeln kann.

bbb) Dilatator des Chylusdarms.

Diese Muskelzellen zeichnen sich meist dadurch aus, daß in ihnen die metachromatischen Stränge weniger durch ihre Zahl als durch ihre

oft kolossale Größe auffallen. Fig. 50 zeigt eine solche Zelle; die enorme Größe einzelner Stränge im Vergleich mit den feinen, zum Teil mit eingezeichneten Stützfibrillen dürfte wohl jeden Zweifel darüber, daß es sich hier nicht um irgendwelche Stützelemente handelt, beseitigen. Photo 15 zeigt die gleichen Verhältnisse. Das Photogramm ist ebenfalls von einem (mit Hämatoxylin — chromsaurem Kali gefärbten) Präparat Prof. Goldschmidts angefertigt und ist deshalb von Interesse, weil es das Präparat ist, nach welchem Goldschmidts (1905) Fig. 20 (Taf. III) gezeichnet wurde. Über Form, Verteilung im Zelleib, Färbbarkeit usw. ist dem oben über den Oesophagus Gesagten nichts hinzuzufügen. Eine nucleäre Herkunft der Stränge ist auch hier nicht zu beobachten, ebenso wenig konnte ich Degenerations- oder Zerfallserscheinungen bemerken. — Schließlich noch ein Wort über die

ccc) Spicular- und Bursalmuskulatur,

die bezüglich der metachromatischen Stränge nichts wesentlich Neues bilden. Alles was bisher über diese gesagt wurde, gilt auch hier, sodaß ich, um Wiederholungen zu vermeiden, auf weiteres verzichten kann. — Wir kämen damit zu dem

3. Darmepithel.

Goldschmidt (1905) hat in seinen Untersuchungen über den Chromidialapparat der *Ascaris*-Zellen auch die einschlägigen Verhältnisse im Darmepithel untersucht und ist dabei zu dem Resultat gekommen, daß auch in diesen Zellen ein Chromidialapparat vorhanden ist, der sich in keinem wesentlichen Punkt von den von ihm als solchen aufgefaßten Bildungen der verschiedenen Muskelzellen unterscheiden. Auch Ehrlich (1909) kommt zu der gleichen Überzeugung, während Vejdovsky und Bilek, ersterer auf Grund seiner Befunde an *Ascaris ensicaudata*, letzterer an *Ascaris lumbricoides* auch hier glauben, die von Goldschmidt als Chromidialapparat beschriebenen Zellbestandteile als Kunstprodukte mißhandelter Stützelemente betrachten zu müssen. Ich komme darauf noch weiter unten zurück, und will zunächst die eignen Befunde erörtern. Wenn wir dabei von *Ascaris lumbricoides* ausgehen, so kann bezüglich der Einzelheiten im Bau der Darmzellen auf die im Abschnitt über das Glykogen gegebene Darstellung verwiesen werden. Hinsichtlich der metachromatischen Stränge kann ich mich im wesentlichen den Schilderungen, die Goldschmidt (1905) und Ehrlich (1909) gegeben haben, anschließen. Unmittelbar an den Stäbchensaum angrenzend zeigen die Darmzellen häufig ein vacuoliges Plasma von anscheinend großer Dichte,

das baumartige Verästelungen centralwärts aussendet. Die baumartigen Verästelungen können bis fast in die Mitte der Zelle vordringen (Fig. 41). Man trifft sie in allen nur möglichen Ausbildungen, selten scheinen sie ganz zu fehlen, die Regel ist eine schwächere Ausbildung, wie etwa in Fig. 12, 40. Man gewinnt den Eindruck, daß man es nicht etwa mit starren Bildungen zu tun hat, vielmehr in der lebenden Zelle hier eine zähflüssige Masse liegt, die durch die Einwirkung der Fixation noch im Moment der Bewegung erstarrt, wie etwa in Wasser gegossenes flüssiges Paraffin. Auf diese Zone der baumartigen Verästelungen folgt eine Zone, die häufig Brocken und Stränge von gleicher Beschaffenheit wie jene Verästelungen enthält (Fig. 40, 41). Man gewinnt den Eindruck, daß diese Brocken und Stränge in genetischem Zusammenhang mit der ersten Zone stehen, dergestalt, daß sich von den baumartigen Verästelungen die Enden ablösen, in ähnlicher Weise wie Tropfenbildung bei dickflüssigen Medien, von etwa der Konsistenz von Canadabalsam zustande kommt. Ähnliche Auffassungen über diesen Punkt haben übrigens auch Goldschmidt (1905) und Ehrlich (1909) geäußert. — Weiter nach dem Kern zu verschwinden die Brocken und Stränge allmählich, um in unmittelbarer Umgebung des Kernes ganz zu fehlen, dann treten aber in der Zone zwischen Kern und cuticularer Grenzlamelle häufig wieder Bildungen auf, die den beschriebenen ganz ähnlich sind (Fig. 38, 40, 41). Man hat auch hier wieder den Eindruck eines vacuoligen Plasmas von dichter Beschaffenheit, das zu Strangbildungen neigt (Fig. 40), aber nicht den Eindruck macht, als wenn es gleichfalls tropfenbildend wäre. Ich glaube, es kann nach der gegebenen Schilderung und den Abbildungen kein Zweifel darüber sein, daß wir es hier nicht mit Stützelementen zu tun haben. Der Umstand, daß diese Bildungen in ihrer Form so ungemein wechselnd sind, einmal ganz fehlen, dann wieder in mächtiger Ausbildung auftretend im Verein mit der Tatsache, daß man feine Stützfibrillen neben ihnen nachweisen kann, schließen eine solche Auffassung von vornherein aus. Welche dieser Bedeutungen kommt diesen Strukturen aber dann zu? Goldschmidt faßt auch sie wie erwähnt, als Chromidialapparat auf und homologisiert sie mit den in den Muskelzellen angetroffenen Bildungen. Doch gibt er selbst an, daß er eine nucleäre Abstammung der Strukturen nicht hat beobachten können. »Ein Punkt ist mir allerdings hier nicht klar, das sind die Beziehungen zum Kern. Ein Herantreten der Stränge an den Kern oder eine besonders dichte Gruppierung um den Kern kam nicht zur Beobachtung.« — Ehrlich (1909) kommt zu einem ähnlichen Resultat. Auch er konnte keinerlei Beziehungen zwischen Plasmastrukturen und Kern feststellen. Wenn er in seiner

Zusammenfassung doch zu dem Resultat kommt, »daß das Vorhandensein eines dreifachen Chromidialapparats in den Darmepithelzellen von *Ascaris lumbricoides* in allen Teilen bestätigt werden konnte«, so ist das wohl so zu verstehen, daß Ehrlich damit lediglich die Vejdovskysche Interpretation der Goldschmidtschen Befunde zurückweisen will und sich an seine und Goldschmidts rein morphologische Beobachtungen hält. Ich kann obige Angaben über den Mangel genetischer Beziehungen zwischen metachromatischen Strängen und Kern nur bestätigen und muß nochmals mit besonderem Nachdruck darauf hinweisen, daß ich hier ebensowenig wie in den Muskelzellen jemals einen Chromatinaustritt beobachten konnte, der für die Bildung der metachromatischen Stränge verantwortlich gemacht werden könnte. Auch das Verhalten der fraglichen Strukturen Farbstoffen gegenüber spricht nicht für nähere Beziehungen zum Kern. Zwar tingieren sie sich mit Chromatinfarbstoffen z. B. Delafield oder Weigert-Heidenhain ziemlich tief und ziemlich ähnlich wie das Kernchromatin, bei Mallory-Färbung aber tritt ein ins Auge springender Unterschied zutage. Das Kernchromatin tingiert sich hier leuchtend rot, die metachromatischen Stränge aber blau, nur intensiver als das übrige Plasma (Fig. 40). Offenbar ist das Tinktionsvermögen jener Strukturen für Chromatinfarbstoffe nur durch ihr dicht gefügtes Plasma bedingt.

Goldschmidt (1905) hat nun auch bei *Ascaris megalocephala* Strukturen im Darmepithel gefunden, die er mit den bei *Ascaris lumbricoides* beschriebenen zu identifizieren geneigt ist. Bereits K. C. Schneider (1902) beobachtete in den Darmzellen von *Ascaris megalocephala* große, stark färbbare Brocken im mittleren Teil der Zellen. Er hält sie, wie ich glaube mit Recht, für Nahrungsballen und bezeichnet sie als »Trophochondren«. Goldschmidt dagegen möchte sie — allerdings mit einer gewissen Zurückhaltung — als Chromidialapparat in Anspruch nehmen. — Bei Untersuchung von *Ascaris megalocephala* bezüglich der Glykogenablagerungen fand ich, wie zu erwarten, in ähnlicher Weise wie bei *Ascaris lumbricoides* in vielen Fällen reichlich Glykogen im Darm. Da die Glykogenschollen und Brocken in genau derselben Gegend liegen wie jene von K. C. Schneider und Goldschmidt beschriebenen, aber verschieden aufgefaßten Zelleinschlüsse, so habe ich allen Grund zu der Annahme, daß es sich dabei entweder um Glykogen selbst oder doch um in unmittelbare Beziehung zu diesem stehende Zelleinschlüsse handelt, nicht aber um einen Chromidialapparat im Sinne Goldschmidts. — Auf die Frage nach der Natur der bei *Ascaris lumbricoides* beobachteten Strukturen, sowie ihren Beziehungen zur Funktion soll weiter unten eingegangen werden.

4. Drüsenzellen des Enddarms und Ovogonien.

Der Enddarm von *Ascaris* wird beim Männchen von sechs Zellen, drei größeren dorsal und lateral und drei kleineren ventral gelegenen, ringförmig umgeben. Sie wurden von Voltzenlogel (1902) näher untersucht und von ihm als Drüsenzellen angesprochen. Der Schilderung Voltzenlogels habe ich nichts Neues hinzuzufügen und verweise deshalb auf sie. Von der drüsigen Natur der Zellen bin ich aber nicht überzeugt. Wohl trifft man verschiedenartiges Aussehen der Zellen, aber der gänzliche Mangel eines Ausführgangs scheint doch der Annahme, daß es sich um Drüsenzellen handelt, nicht eben günstig. Ich bin dieser Frage nicht weiter nachgegangen, sondern habe mich darauf beschränkt, nach dem von Goldschmidt (1905) auch für diese Zellen beschriebenen Chromidialapparat zu suchen, ohne daß ich dabei zu einem positiven Resultat gelangt wäre. Ich konnte stets nur die von Goldschmidt beschriebene und in seiner Fig. 43 abgebildete fädige Struktur des Plasmas beobachten, nie aber jene Chromidialstränge. Freilich soll damit ihr Vorkommen nicht bestritten werden, da aber auch in dem von Goldschmidt beschriebenen Fall eine nucleäre Abstammung jener Strukturen nicht sichergestellt werden konnte, ist die Frage für uns von keiner prinzipiellen Bedeutung. — Auch für die Ovogonien hat Goldschmidt (1905) einen in Form von Granulen auftretenden Chromidialapparat beschrieben. Ich konnte diese Granula mit der Bendaschen Methode besonders deutlich machen, bin aber von ihrer nucleären Natur nicht überzeugt.

bb) Metachromatische Stränge und Organfunktion.

Von der Annahme ausgehend, daß die von ihm in den *Ascaris*-Zellen beobachteten Strukturen mit dem Funktionszustand wechseln, versuchte Goldschmidt die Lösung der Frage nach der Natur und Entstehung des »Chromidialapparats« auf experimentellem Wege zu lösen und zwar geschah das durch faradische und Alkoholreizung der Ascariden. Waren Beziehungen zwischen Muskeltätigkeit und Chromidialapparat vorhanden, so mußten diese durch solche Versuche eine Aufklärung erfahren. Ließ sich gar Neubildung des Chromidialapparats beweisen, so mußte sich die vermutete Entstehung aus dem Chromatin des Kernes mit aller nur wünschenswerten Genauigkeit verfolgen lassen. Wie Goldschmidt angibt, ist es ihm gelungen, durch einstündigen Tetanus eine bedeutende Vermehrung der Stränge in einzelnen Muskelzellen, nämlich den Ventralmuskelzellen des männlichen Hinterendes sowie den Retraktoren der Spiculae zu erreichen. — Als weiteres Reizmittel für die Ascariden diente

Goldschmidt Alkohol, da nach Goldschmidts Angaben Weinland beobachtet hatte, daß die Ascariden bei Zusatz von alkoholischer Phenolphtaleinlösung zur Kulturflüssigkeit in ungewöhnliche Erregung gerieten. »Sie schlangen sich wie wild durcheinander, bäumten sich auf und geberdeten sich wie toll.« Goldschmidt hielt die Tiere 3 Tage bei Körpertemperatur und setzte kleine Quantitäten Alkohol zu, da sich gezeigt hatte, daß dieser in den Weinlandschen Versuchen das Reizmittel gewesen war. Nach 5stündigem Abarbeiten zeigte sich noch keinerlei Veränderung in dem Zustande des »Chromidialapparats«. Nach 26 Stunden dagegen ist er »annähernd verschwunden«. Nur noch einzelne Fäden sind sichtbar — es handelt sich wieder um die Körpermuskelzellen des männlichen Hinterendes und die Spicularmuskeln — die oft Degenerationsbilder darbieten. Nach 3tägiger Abarbeitung der Tiere soll dann keine Spur eines Chromidialapparats mehr zu finden sein.

Es war selbstverständlich, daß ich diese Versuche in der gleichen Weise wie Goldschmidt anstellen mußte, leider aber konnte ich keinen rechten Erfolg erzielen. Den Versuch durch elektrische Reizung einen starken Tetanus bei *Ascaris* zu erhalten, habe ich dreimal unter gütiger Hilfe von Professor Weinland angestellt in der Weise, daß wie in den Goldschmidtschen Versuchen, dem Tiere Nadelelektroden eingestochen wurden, die in den beiden ersten Versuchen mit einem mittleren Inductorium verbunden waren. In allen drei Versuchen wurden die Tiere je 1 Stunde der Reizung ausgesetzt, nach Beendigung des Versuchs und Prüfung ob noch am Leben — was in allen drei Versuchen der Fall war — wurden die Tiere in kleine Stücke zerschnitten und wie gewöhnlich in Carnoy fixiert. Bei den ersten beiden Versuchen war ein deutlicher Tetanus überhaupt nicht zu erreichen. Die Kontraktion des Tieres war nur geringfügig. Im dritten Fall wurde ein äußerst kräftiges Inductorium benutzt und auf diese Weise ein deutlicher Tetanus erzielt. Das Tier verkürzte sich bei Schließung des Stromes um etwa ein Drittel bis zur Hälfte seiner Länge, um bei Öffnung wieder die normale Länge anzunehmen. Die Prüfung der Verhältnisse des »Chromidialapparats« ergab in allen drei Versuchen, daß aber auch nicht die geringste Veränderung eingetreten war, während Goldschmidt (ebenfalls unter Mitarbeit Weinlands) aus unbekannten Gründen glücklicher war. Geprüft wurden natürlich zunächst die Körpermuskelzellen des männlichen Hinterendes, in das die eine Elektrode eingeführt worden war, dann die Oesophagusmuskulatur und Körpermuskelzellen des Kopfes, der die andre Elektrode enthalten hatte, schließlich noch Körpermuskelzellen aus der mittleren Körperregion. Die Ventralmuskeln des männlichen Hinterendes ebenso

wie die des Oesophagus zeigten die gewöhnliche Ausbildung der Stränge, die natürlich schon an sich beträchtlichen individuellen Schwankungen unterworfen ist. Die Muskelzellen der mittleren Körperregion, die, da sie normalerweise ausnahmslos frei von Chromidialsträngen sind, als einzig sicheres Objekt für die Beurteilung der Frage dienen konnten, ob durch die angestellten Versuche Neubildung des Chromidialapparats erfolgt oder nicht, erwiesen sich ohne Ausnahme als gänzlich frei von irgendeiner Bildung, die man als Chromidialstrang bezeichnen könnte. Daß auch alle übrigen untersuchten Zellen des *Ascaris*-Körpers wie Darmzellen usw. nichts von einer in Beziehung zur Reizung stehenden Änderung der beschriebenen Strukturen zeigten, bedarf kaum mehr der Erwähnung. Das Ergebnis muß als absolut negativ bezeichnet werden.

So blieb mir nur der Weg der Alkoholreizung. Ich verfuhr in der von Goldschmidt angegebenen Weise und setzte zur Kulturlösung kleine Mengen Alkohol zu, ohne daß die Würmer aber auch nur die geringste Spur der Erregung zeigten, der Versuch wurde mit dem gleichen negativen Erfolg, mit größeren oder kleineren Alkoholzugaben sechsmal wiederholt. Ich versuchte dann mit alkoholischer Phenolphtaleinlösung, da diese das gesuchte Reizmittel gewesen sein konnte, ohne den geringsten Erfolg zu erzielen. Ich versuchte es dann in drei Fällen mit dem Wurmabtreibemittel »Santonin«, von dem verschieden große Dosen zur Kulturlösung zugegeben wurden, ebenfalls ohne jeden Erfolg. Nachdem noch eine Reihe von Säuren und Laugen, deren Aufzählung mir erspart bleiben möge, ebenfalls ohne Resultat versucht worden waren, mußte ich die Versuche durch weitere Reizmittel, die Muskeltätigkeit der Ascariden zu erhöhen, als erfolglos aufgeben. Es ist mir dies Resultat ebenso wie Herrn Prof. Goldschmidt, vor dessen Augen ein Teil der Versuche ausgeführt wurde, völlig unerklärlich. Wodurch in dem von Goldschmidt angestellten, positiv ausgefallenen Versuch, der ja auf die diesbezüglichen Beobachtungen Weinlands zurückging, die Bedingung der Reizung gegeben war, muß als ungelöstes Rätsel dahingestellt bleiben, sicher ist, daß das positive Resultat Goldschmidts zufällig erreicht wurde, die Bedingungen für ein Gelingen daher unbekannt sind. Die durch die von Goldschmidt ausgeführte Alkoholreizung erreichte Alteration des »Chromidialapparats« konnte also von mir nicht nachuntersucht werden. Ich muß aber von den weiter unten zu entwickelnden Gesichtspunkten aus mich der Auffassung zuneigen, daß auch hier die Goldschmidtschen Ergebnisse weniger durch den Versuch als durch außerhalb desselben liegende individuelle Schwankungen erklärt werden müssen.

Doch noch eine Frage bleibt hier zu beantworten, nämlich, ob bei

einem Organ, das unabhängig von künstlichen Reizzuständen es gestattet, seinen normalen durch verschiedene Größe der Funktionsintensität bedingten Zustand mit der Ausbildung jenes »Chromidialapparats« Goldschmids zu vergleichen, sich Beziehungen zwischen Funktion und jenem feststellen lassen. Ein solches Organ ist der Darm. Wir haben oben gesehen, wie die Resorption, Aufstapelung und Weiterbeförderung der Kohlehydrate durch die Darmepithelzellen vor sich geht und es lag nahe auch zu untersuchen, ob die beschriebenen Plasmastrukturen in irgendeinem Zusammenhang mit der Resorption der Kohlehydrate stehen. Eine solche Beziehung besteht keineswegs, die beschriebenen Strukturen sind vielmehr gänzlich unabhängig von dem Glykogengehalt der Darmzellen und unterscheiden sich anscheinend auch in diesem Punkt von den ihnen gleichgesetzten Bildungen innerhalb der Muskelzellen. Einige Beispiele mögen das erläutern. Die Fig. 40 und 41 zeigen mächtige Ausbildungen der metachromatischen Stränge der Darmzellen, obwohl ihr Glykogengehalt, wie Kontrollfärbungen mit Best lehren, nur etwa dem von Photo 7 und Fig. 11 entspricht. In dieser letztern wiederum sind die Strukturen nur in minimaler Ausbildung vorhanden. Sie fehlen völlig im mittleren Teil der Zellen und zwischen Kern und cuticularer Grenzlamelle. Der dem Stäbchensaum anliegende Teil der Zellen zeigt eine recht schwache Ausbildung, ähnlich verhalten sich die in Fig. 14 abgebildeten Zellen, von denen nur die kernhaltige Hälfte gezeichnet, deren Glykogengehalt etwas reichlicher ist. Fig. 12 zeigt starken Glykogengehalt der Zellen und stärkere Ausbildung der metachromatischen Stränge gegen das Darmlumen zu, völliges Fehlen dagegen zwischen Kern und Grenzlamelle sowie im mittleren Teil. Fig. 13 gibt einen Querschnitt durch den Darm nach zweimaliger Dextroseinjektion innerhalb zweier Tage wieder. Die Zellen sind mit Glykogen vollgepfropft, die metachromatischen Stränge nur schwach nach dem Darmlumen zu entwickelt. Die Fig. 38 und 39a, b endlich stellen die kernhaltigen Hälften der Darmzellen zweier Tiere dar, die beide nur Spuren oder kein Glykogen enthalten. In einem Fall ist zwischen Kern und Grenzlamelle der »Chromidialapparat« erhalten, im andern nicht.

Aus diesen Beispielen geht zur Genüge hervor, daß bei der Ausbildung der metachromatischen Stränge des Darmepithels keinerlei morphologisch sichtbar zu machende Beziehungen zur Aufnahme und Abgabe der Kohlehydrate bestehen. Auffällig ist allerdings, daß die in Rede stehenden Strukturen in ihrer Hauptmasse stets da zu finden sind, wo wir nach unsern früheren Auseinandersetzungen die leicht löslichen Kohlehydrate wie Zucker und Dextrine zu suchen haben. Ob dem aber eine

tiefere Bedeutung zukommt, muß zum mindesten als zweifelhaft betrachtet werden, dagegen kann es nach den übereinstimmenden Beobachtungen von Goldschmidt, Ehrlich und mir keinem Zweifel unterliegen, daß die fraglichen Bildungen eine funktionelle Struktur darstellen. Vielleicht stellen sie den morphologisch verfolgbaren Abschnitt einer Eiweißresorption vor, eine Vorstellung, die mancherlei für sich hat. Wie bereits erwähnt, sind die im mittleren Teil der Zellen enthaltenen Brocken und Stränge anscheinend auf Tropfenbildung seitens der dem Stäbchensaum anliegenden Massen zurückzuführen. Es wäre also sehr wohl denkbar, daß wir es hier mit totem Nahrungseiweiß zu tun haben, das in dieser Weise dem lebenden Protoplasma zugeführt würde. Ich bin mir wohl bewußt, daß einer solchen Interpretation mancherlei Schwierigkeiten erwachsen, immerhin habe ich sie als denkbar hier vorgebracht, da wie auch Gurwitsch (1904) betont, unsre Kenntnisse über die Morphologie der Eiweißresorption alles zu wünschen übrig lassen.

cc) Beziehungen zwischen metachromatischen Strängen und Glykogen bei Ascaris.

Wir sind eben auf die Beziehungen zwischen metachromatischen Strängen und Glykogengehalt des Darmes eingegangen und wollen nun die betreffenden Verhältnisse für die übrigen Organe im Zusammenhange besprechen. — Es war mir darum zu tun, durch die erwähnten Reizversuche das Glykogen schneller als dies durch Hunger möglich, zum Schwinden zu bringen, um dadurch zu ermitteln, ob gewisse Beziehungen, die zwischen Glykogengehalt und metachromatischen Strängen der Muskelzellen zu bestehen scheinen, sich näher verfolgen ließen. Mit welchem Erfolg dies geschah, werden wir bald sehen und wollen zunächst die Beziehungen zwischen Glykogen und metachromatischen Strängen

1. bei guter Ernährung

betrachten.

Es war mir aufgefallen, daß sich in manchen Fällen feststellen ließ, daß die Ausbildung der metachromatischen Stränge der Oesophagusmuskelzellen, die ich wegen der Klarheit in der Ausbildung jener Strukturen besonders berücksichtigte, mit dem Glykogengehalt schwankte. Es zeigte sich, daß, wenn die Muskelzellen viel Glykogen enthielten, die metachromatischen Stränge entweder gar nicht oder nur in schwacher Ausbildung vorhanden waren. Fig. 6 zeigt z. B. eine solche Zelle, in der nicht eine Spur von jenen Plasmastrukturen zu beobachten ist, dagegen enthält sie reichlich Glykogen. Von solchem vollständigen Fehlen,

das allerdings, wie schon oben bemerkt, selten zur Beobachtung kommt, bis zur mächtigsten Ausbildung, wie z. B. auf Photos 11, 12, 13 und Fig. 48, gibt es nun alle Übergänge. Nun könnte man meinen, daß durch die starken Glykogenanhäufungen die metachromatischen Stränge nur verdeckt würden, dazu ist zunächst zu bemerken, daß man eben auch Zellen findet, in denen trotz relativ reichlichem Glykogengehalt metachromatische Stränge vorkommen (Fig. 30) und dann sehr wohl sichtbar zu machen sind. Um aber einem solchen Einwand den Boden zu entziehen, habe ich Tiere, die nach unmittelbarer Entnahme aus dem Wirtsdarm fixiert wurden, zum Teil nach Best auf Glykogen, zum Teil nach Weigert-Heidenhain-van Gieson auf metachromatische Stränge hin gefärbt, dabei ergab sich, daß in der Tat bei Tieren von nachweislich reichem Glykogengehalt jene Stränge zum Teil gänzlich fehlten, zum Teil nur relativ schwach ausgebildet waren. Nun darf freilich nicht verhehlt werden, daß ich auch in Tieren von reichlichem Glykogengehalt Zellen fand, in denen die fraglichen Strukturen in großer Zahl und Mächtigkeit vorhanden waren, so daß aus solchen Befunden allein eine Reziprozität im Auftreten von metachromatischen Strängen und Glykogen in den Oesophagusmuskelzellen mit Sicherheit nicht abgeleitet werden kann. Viel deutlicher traten derartige Beziehungen in den Körpermuskelzellen des Kopfes und Schwanzes zutage. Ich konnte hier fast regelmäßig nur dann metachromatische Stränge auffinden, wenn die betreffenden Muskelzellen sich arm oder frei von Glykogen erwiesen (Fig. 27). Enthielten dagegen die Zellen Glykogen, wie besonders deutlich an denen der mittleren Körperregion zu sehen ist, die stets stark glykogenhaltig sind, so fehlten hier ausnahmslos die metachromatischen Stränge. — Doch bei allen solchen Beobachtungen ist mit einem Faktor zu rechnen, der, wie wir oben bereits sahen, wahrscheinlich auch von Goldschmidt nicht genügend berücksichtigt worden ist, nämlich die individuellen Schwankungen. Daß diese tatsächlich in hohem Maße vorhanden sind, davon konnte ich mich bei der Durchsuchung einer großen Anzahl von Tieren überzeugen. Nur der Weg des Versuchs konnte hier eine Entscheidung bringen, es war daher zunächst festzustellen, wie sich die Verhältnisse

2. während des Hungerns

gestalteten.

Wir haben oben gesehen, auf welche Art während des Hungerns das Glykogen verbraucht wird und wollen nun verfolgen, ob und in welcher Weise sich dabei Änderungen in der Ausbildung der metachromatischen Stränge zu erkennen geben. Auf die während des Hungerns auftretenden

charakteristischen Kernveränderungen brauchen wir dabei nicht mehr einzugehen, da sie bereits oben besprochen wurden. Von Interesse ist nur noch, daß das Chromatin des Kernes gegen Ende des Hungerns stark sauer reagieren muß, da es bei DELAFIELD-Färbung einen rötlichen Ton annimmt (Fig. 8). — Wenn wir nochmals einen Blick auf die Fig. 6 und 29 werfen, die von Tieren mit reichlichem Glykogengehalt stammen, so fällt auf, daß die metachromatischen Stränge bereits am 2. Hungertage zugenommen haben, wie Fig. 7 zeigt. Am 3. und 4. Hungertage sind die Verhältnisse etwa wie in Textfig. C und E abgebildet, in welcher übrigens nur die in unmittelbarer Umgebung des Kernes liegenden Stränge wiedergegeben sind. Am 5. Hungertage resultiert dann ein Bild, wie es Fig. 8 wiedergibt.

Wenn also wirklich, wie es den Anschein hat, die Menge der metachromatischen Stränge während des Hungerns zunimmt, so erhebt sich die Frage, ob die Art und Weise der Neubildung verfolgt werden kann. Ich habe bei den Hungertieren auch nicht den geringsten Anhaltspunkt finden können, wie die Neubildung erfolgt, dagegen ließ sich gerade bei den Hungertieren mit aller Sicherheit feststellen, daß die metachromatischen Stränge jedenfalls nicht vom Kernchromatin aus gebildet werden. Wir sahen, daß jene konzentrische Plasmazone um den Kern sich während des Hungerns verliert, daß die Kernmembran undeutlich wird, um schließlich häufig ganz zu verschwinden, daß der Kern pseudopodienartige Fortsätze aussendet und so seine Oberfläche erheblich vergrößert. Diese Umstände müßten, falls die Neubildung der metachromatischen Stränge vom Kern ausgeht, die Beobachtung einer Chromatinabgabe seitens des letzteren außerordentlich erleichtern. Trotzdem konnte ich in keinem einzigen Fall eine solche feststellen. Die Neubildung der metachromatischen Stränge erfolgt nicht vom Kern aus, sie muß auf andre Weise vor sich gehen, wie das geschieht, darüber können vielleicht Beobachtungen an Tieren, die reichlich Glykogen enthalten, Aufschluß geben. Fig. 30 stellt eine Flächenmuskelzelle aus dem Oesophagus von *Ascaris lumbricoides* dar. Das Präparat läßt auf den ersten Blick fast gar nichts von metachromatischen Strängen erkennen; erst bei genauem Zusehen sieht man sehr undeutlich konturierte Flecken und Stränge, die sich mit DELAFIELD schwach gefärbt haben. Über ihre Identität mit den metachromatischen Strängen kann kein Zweifel bestehen, sie machen einen verquollenen, verwaschenen Eindruck, der durch die undeutliche Konturierung noch erhöht wird. Einige Stränge, — besonders die quer getroffenen zeigen das — scheinen in länglichen Vacuolen zu liegen, die sich der Form der Stränge anpassen. Das ganze Bild macht den Eindruck, als wenn hier

entweder Neubildung oder Auflösung der metachromatischen Stränge vorläge. Noch mehr aber bekommt man diesen Eindruck bei Betrachtung der Fig. 29, die eine Flächenmuskelzelle aus einem reichlich Glykogen enthaltenden Oesophagus von *Ascaris megalocephala* darstellt. Es sind entsprechend dem reichlichen Glykogengehalt nur ganz wenig metachromatische Stränge vorhanden, die ebenfalls zum größten Teil in Vacuolen liegen. — Auf den Umstand, daß den Strängen fast durchgehend eine Art Mantel von Glykogenkörnchen aufliegt, möchte ich weniger Wert legen, da dies vielleicht nur Produkt der Glykogenausfällung ist. — Nun trifft man aber eine ganze Reihe von Vacuolen, die in ihrem Inneren keine metachromatischen Stränge besitzen. Es fragt sich nun, ob wir es hier mit Auflösungs- oder Neubildungserscheinungen der Stränge zu tun haben. Ich vermag einen definitiven Entscheid hierüber nicht zu geben, man kann ebenso gut annehmen, daß die Vacuolen durch Verflüssigung der metachromatischen Stränge entstanden sind, wie umgekehrt, daß jene aus dem flüssigen Vacuoleninhalt herausgebildet werden, etwa wie ein Kristall aus der Mutterlauge auskristallisiert. — Ich will, wie gesagt, nicht darüber entscheiden, welche Annahme die wahrscheinlichere ist und habe diese Verhältnisse nur deshalb eingehender besprochen, weil derartige Bilder die einzigen sind, die über die in vermutlichem Zusammenhang mit dem Glykogengehalt stehenden Neubildungs- und Zerfallserscheinungen der metachromatischen Stränge Aufschluß zu geben vermögen.

Trotzdem in einer Anzahl von Fällen eine Reziprozität zwischen Glykogengehalt und Zahl der metachromatischen Stränge mit ziemlicher Sicherheit festgestellt werden konnte, ließ sich gerade bei den Oesophagusmuskelzellen der individuelle Faktor nicht mit genügender Sicherheit ausschalten, hierfür waren wieder die Körpermuskelzellen das geeignetere Objekt. Da zeigte sich auch in der Tat, daß bei den Körpermuskelzellen der Kopfregion eine auffallende Beziehung zwischen Glykogengehalt und metachromatischen Strängen bestand. Während ich die Stränge bei reichlichem Glykogengehalt niemals beobachten konnte, traten in glykogenfreien Markbeuteln solche auf. Fig. 27 zeigt eine solche Zelle am 2. Hungertag. — Nun haben wir oben gesehen, daß es selbst nach 6tägiger Hungerperiode nicht gelang, die Markbeutel der Muskelzellen aus der mittleren Körperregion glykogenfrei zu machen. In Übereinstimmung damit habe ich in keinem einzigen Falle innerhalb solcher Zellen auch nur eine Spur von metachromatischen Strängen gefunden. — Es war deshalb von besonderem Interesse zu versuchen, ob es

3. bei Reizung

gelingt, die Körpermuskelzellen der mittleren Körperregion glykogenfrei zu machen und dann zu ermitteln, ob nunmehr in diesen metachromatische Stränge auftreten. Ein positives Ergebnis in dieser Hinsicht hätte natürlich einen vollgültigen Beweis für die vermutliche Reziprozität zwischen Glykogen und den Strängen bedeutet. Indessen führte auch hier die faradische Reizung nicht zu dem gewünschten Resultat. Eine nur irgendwie ins Gewicht fallende Verminderung des Glykogengehalts der Körpermuskelzellen konnte ebensowenig erreicht werden, wie Neubildung von metachromatischen Strängen und die an und für sich in ihrem Gehalt an Glykogen wie an metachromatischen Strängen viel zu sehr wechselnde Muskulatur des männlichen Hinterendes, konnte, wie schon oben betont, für solche Versuche nicht in Betracht kommen. Das völlig negative Ergebnis der Alkoholreizung fand schon Erwähnung. So blieb nur noch ein Weg zur Prüfung der Frage offen, nämlich der, zu ermitteln, ob

4. nach Dextroseinjektion

während des Hungerns, die, wie wir sahen, zu beträchtlicher Ersparnis, ja Neubildung von Glykogen während des Hungerns führt, auch entsprechende Änderungen im Auftreten der metachromatischen Stränge zu beobachten sind. Es liegt auf der Hand, daß, wenn man während des Hungerns der Tiere täglich eine Dextroseinjektion vornimmt, bereits am 2. Tage, an dem unter gewöhnlichen Verhältnissen schon eine erhebliche Menge von metachromatischen Strängen vorhanden wäre, entweder keine oder nur geringe Mengen von solchen auftreten dürften. Ich konnte etwas derartiges in der Tat beobachten. Wenn man die Fig. 7 einer Oesophagusflächenmuskelzelle von einem Tier, das 36 Stunden gehungert hat — auf welcher die Hauptmasse der Stränge zufällig quer getroffen ist — mit den Fig. 9 und 10 vergleicht, die von einem Tier stammen, das zweimal während einer etwa 48stündigen Hungerperiode mit Dextroselösung injiziert wurde und das dementsprechend einen starken Glykogenansatz erkennen ließ, so ist der Unterschied ins Auge springend. Namentlich ein Vergleich der Fig. 7 und 9 zeigt den Unterschied sehr deutlich. Fig. 10 ist deshalb von besonderem Interesse, weil sie zeigt, daß hier die sämtlich quer getroffenen metachromatischen Stränge eine auffallend starke Tingierung durch die Bestsche Glykogenfärbung erhalten haben — was übrigens nicht nur bei dieser Zelle, sondern sowohl bei den beiden andern mit ihr auf gleicher Höhe liegenden sowie einer Anzahl weiterer der Fall ist. Die Stellen, an denen sonst die homogenen meta-

chromatischen Stränge liegen, sind hier von stark vacuolisierten Körpern eingenommen, die den Eindruck des Zerfalls, der Auflösung machen und sich bei der Bestschen Carminglykogenfärbung nach vorausgegangener Delafield-Färbung intensiv rot tingieren. Die Kerne zeigen hier eine etwas geringere Pseudopodienbildung als die etwas weiter caudal liegenden, von denen einer in Fig. 9 dargestellt ist. Diese Zelle zeigt zwar noch einige metachromatische Stränge, indessen steht ihre Zahl in gar keinem Verhältnis zu der nach 48stündigem Hungern zu erwartenden Menge. Schließlich sei noch erwähnt, daß in der Regel festgestellt werden konnte, daß bei reichlichem Glykogengehalt sich die vorhandenen metachromatischen Stränge mit Chromatinfarbstoffen schwächer färbten als bei schwachem oder mangelndem Glykogengehalt.

So glaube ich zu der Annahme berechtigt, daß in der Tat Beziehungen zwischen metachromatischen Strängen und Glykogen vorhanden sind, welcher Art diese sein können, soll weiter unten noch erörtert werden. Ich möchte aber hier schon darauf hinweisen, daß ich mir in der Verwertung solcher Ergebnisse die größte Reserve auferlegen möchte. — Nur einen Einwand, der hier vielleicht gemacht werden könnte, möchte ich vorweg nehmen, nämlich den, daß solche Ergebnisse eventuell auf ungleich lange oder ungleichmäßige Färbung zurückgeführt werden könnten; dazu muß ich bemerken, daß ich die Objektträger immer zu je 10 auf ein Gestell gebracht und zusammen nach Zeit gefärbt und differenziert habe.

dd) Mikrochemisches Verhalten der metachromatischen Stränge.

Nachdem sich im Lauf der Untersuchungen bereits mit ziemlicher Sicherheit ergeben hatte, daß für die metachromatischen Stränge der *Ascaris*-Zellen eine nucleäre Natur nicht zu erweisen war, galt es auch auf mikrochemischem Wege den Beweis zu erbringen, daß der Kern sich verschiedenen Reagenzien gegenüber anders verhält als die metachromatischen Stränge. Ich habe bereits erwähnt, daß diese sich gewöhnlich anders färben als das Chromatin. Bei Weigert-Heidenhain z. B. Chromatin schwarzblau, metachromatische Stränge rötlich-violett (Fig. 48). Bei nachträglicher Differenzierung mit van Gieson werden sie häufig rein gelb (Photo 11). Die Triacidfärbung färbt die Stränge dunkelblau-violett, das Chromatin grünlich-braun (Photo 13). Bei gewöhnlicher Delafield-Färbung färben sich die Stränge stets viel blasser als das Chromatin. Schon Goldschmidt stellte fest, daß bei der Chrom-Hämatoxylinmethode nach Heidenhain die Stränge stahlblau, das Chromatin mehr grau gefärbt wird. — Das gänzlich differente Verhalten der metachromatischen Stränge der Darmzellen gegenüber dem Kern

bei Mallory-Färbung wurde schon oben erwähnt, bei den Strängen der Oesophagusmuskelzellen, die, wie wir oben sahen, sich von denen der Darmzellen wesentlich unterscheiden, führte die Mallory-Färbung zu keiner genügend differenten Tingierung von Chromatin und metachromatischen Strängen. — Trotzdem schien es geraten, nach Mitteln zu suchen, die unabhängig vom färberischen Verhalten es gestatten, etwa bestehende chemische Unterschiede zwischen Chromatin und metachromatischen

Textfig. C.

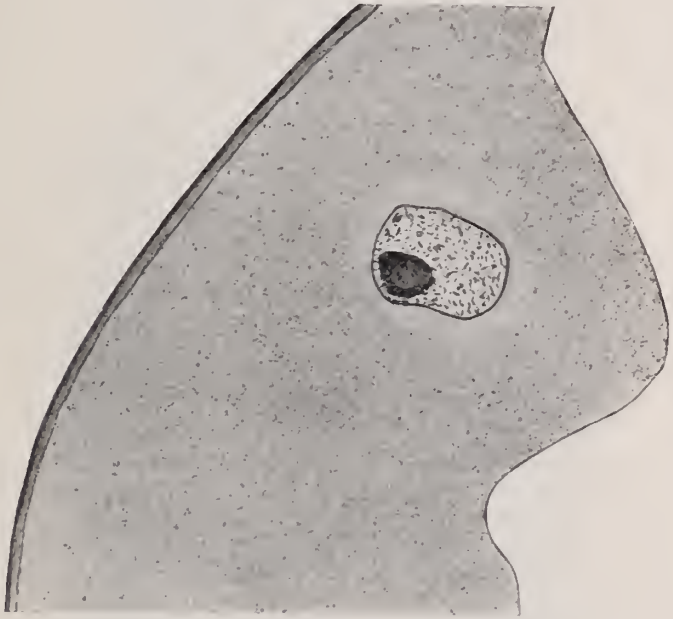
Flächenmuskelzelle des Oesophagus mit metachromatischen Strängen vor Behandlung mit 35% KOH.

Strängen aufzudecken. Als nächstliegendes Mittel kam Prüfung der Lösungsverhältnisse beider Substanzen in Säuren und Laugen in Betracht, die mit Delafield oder Weigert-Heidenhain gefärbten Schnitte wurden mit Salz-, Salpeter- und Schwefelsäure behandelt, ohne daß hierbei sich jedoch besondere Differenzen zwischen Chromatin und den Strängen ergaben. Dagegen führte Behandlung mit 35%iger Kalilauge zu dem ganz eindeutigen Resultat, daß die metachromatischen Stränge gelöst wurden, das Chromatin des Kernes dagegen völlig intakt blieb (Textfig. C u. D).

Als zur mikrochemischen Differenzialanalyse ferner geeignet erwies sich die Methode der künstlichen Verdauung, diese wurde mit Pepsin und Trypsin vorgenommen. Zur Pepsinverdauung diente das Pepsin

puriss. von Grübler in 0,5%iger Lösung, die 0,4% Salzsäure enthielt. Die Trypsinverdauung erfolgte mit dem Pancreatin pur. activum von der »Rhenania«, Aachen, in einer 0,5—0,6%igen Lösung, der einige Tropfen Sodalösung bis zur schwach alkalischen Reaktion zugesetzt wurden. Von der verdauenden Kraft der verwandten Lösungen überzeugte ich mich stets durch Kontrollversuche mit Fibrinflocken, die im Thermostat bei 37° leicht gelöst wurden. Die Verdauung der Schnitte wurde bei

Textfig. D.



Flächenmuskelzelle des Oesophagus mit metachromatischen Strängen nach Behandlung mit 35% KOH.

37° vorgenommen und unter dem Mikroskop kontrolliert. Durch Färbung mit Delafield oder Weigert-Heidenhain überzeugte ich mich zunächst von der Anwesenheit der metachromatischen Stränge. Die Präparate wurden hierauf gezeichnet und dann der Verdauung unterworfen. Es zeigte sich jedoch, daß die Pepsinverdauung allein ebensowenig zu einem sicheren Resultat führte, wie die Trypsinverdauung. Chromatin und metachromatische Stränge erwiesen sich als fast gleich resistent gegenüber beiden Fermenten. — Bei diesen Versuchen ergab sich übrigens ein merkwürdiges Verhalten der mit Delafield gefärbten Schnitte gegenüber dem Trypsin. Während nämlich bei Pepsinverdauung

durch die Salzsäure die Färbung rasch extrahiert wird, ist das bei Trypsin natürlich nicht der Fall. Bei andauernder Pepsinbehandlung wird nun innerhalb weniger Stunden der größte Teil der Schnitte verdaut. Anders bei Trypsin. Ich habe mit DELAFIELD gefärbte Schnitte auf dem Objekt-

Textfig. E.

Flächenmuskelzelle des Oesophagus mit metachromatischen Strängen vor Verdauung mit Pepsin-Trypsin.

träger 5 Tage in Trypsinlösung bei 37° gehalten, ohne daß auch nur die geringste Lösung zu bemerken war. Extrahiert man dagegen die Färbung mit Salzsäure und bringt dann in Trypsin, so erfolgt die Lösung des größten Teiles der Schnitte ebenso rasch wie bei Pepsin. Es ist also kein Zweifel darüber möglich, daß die Färbung der Schnitte ihre Angreifbar-

keit gegenüber Trypsin zum mindesten ganz bedeutend herabgesetzt, wenn nicht völlig aufgehoben hat, eine Tatsache, die für die Theorie der Färbung gewiß nicht ohne Interesse ist.

Nachdem sich also gezeigt hatte, daß Pepsin und Trypsin allein

Textfig. F.

Flächenmuskelzelle des Oesophagus mit metachromatischen Strängen nach Verdauung mit Pepsin-Trypsin.

angewandt nicht zu brauchbaren Resultaten führten, kombinierte ich beide Methoden. Unter dem Mikroskop wurde bei 37° einige Zeit mit Pepsin angedaut, dann vorsichtig mit schwach alkalischem Wasser gewaschen und hierauf die Verdauung mit Trypsin zu Ende gebracht. Auf diese Weise wird also der Prozeß der Eiweißspaltung in einer Weise durchgeführt, der dem sich im Verdauungstractus des höheren Tieres abspielen-

den völlig analog ist. — Das Resultat war durchaus eindeutig. Es gelang durch entsprechende Änderung in der Dauer der Einwirkung beider Fermente Kerne und die übrigen Zellbestandteile völlig intakt zu erhalten und nur die metachromatischen Stränge zur Lösung zu bringen. Die beistehenden Textfig. E und F mögen die so erhaltenen Bilder illustrieren. Damit war erwiesen, daß Chromatin des Kernes und metachromatische Stränge sich in ihrem mikrochemischen Verhalten prinzipiell unterscheiden.

In diesem Zusammenhang seien schließlich noch einige Versuche erwähnt, die zu dem gleichen Zweck angestellt waren, wie die soeben besprochenen. — An Alkoholmaterial und Gefrierschnitten wurde die Methylgrün-Essigsäuretinktion nach Carnoy angewandt, die nach Fischer (1899) »mit einem Schein von Berechtigung« als Kernfärbemittel zu bezeichnen ist. Das Resultat war, daß in durch den Oesophagus geführten Schnitten die innere cuticulare Auskleidung stark grün gefärbt wurde, Kerne und metachromatische Stränge dagegen sich überhaupt nicht färbten. Ich kann daher Lee und Mayer (1907) nicht beipflichten, die dies Verfahren als »scharfes Farbreagenz auf Chromatin« bezeichnen. Auch intravitale Färbungen mit Methylgrün und Neutralrot führten zu keinem Resultat, ebensowenig wie der von Macallum (1908) angegebene Phosphornachweis. Ich habe trotz wiederholter Versuche, bei denen ich mich genau an die von Macallum gegebenen Vorschriften hielt, weder im Kern noch den metachromatischen Strängen jemals eine Phosphorreaktion erhalten können. Nicht viel besser ging es mir mit dem Eisennachweis nach Macallum. Auch hier konnte ich zu keiner präzisen Reaktion gelangen. Nur in einem Falle erhielt ich eine diffuse Färbung von Berliner Blau, die aber keinerlei Schlüsse darüber zuließ, an welchen Zellbestandteil das Eisen geknüpft ist. — Schließlich sei noch erwähnt, daß auch die von Ehrlich (1885) angegebene Methode der Bildung von Indophenol in lebenden Geweben nach Injektion äquimolecularer Lösungen von *α*-Naphtol und Paraphenylendiamin zur Anwendung gelangte. Es war nämlich gerade mit Rücksicht auf die von Loeb (1899) vertretene Anschauung, daß der Kern das Oxydationsorgan der Zelle sei, von Interesse, ob sich etwa bei *Ascaris* eine Sonderung des Kernes in einen etwaigen Oxydationsprozesse und einen die übrigen Leistungen der Zelle vermittelnden Teil vollzogen hätte, als deren einer dann die metachromatischen Stränge zu betrachten seien. Die anoxybiotische Lebensweise von *Ascaris* machte ja von vornherein die Übertragung der Loebschen Vorstellung von der Rolle des Kernes auf die Verhältnisse bei *Ascaris* nicht eben wahrscheinlich, immerhin schien es von Interesse, eine Prüfung in dieser Richtung vorzunehmen.

Ehrlich (1885) fand, daß die an sich farblosen Lösungen von α-Naphtol und Praraphenylendiamin bei Anwesenheit von Sauerstoff unter Wasseraustritt einen blauen Farbstoff, das Indophenol (Naphtolblau), bilden:

$$C_6H_4(NH_2)_2 + C_{10}H_7.OH + O_2 = C_{10}H_5OH{-}C_6H_4(NH_2) + 2H_2O.$$

Ehrlich stellte fest — Spitzer (1895) und Röhmann und Spitzer (1895) haben das Verfahren weiter untersucht, — daß in einer Mischung äquimolecularer Lösungen beider Substanzen von geringer Konzentration die Bildung des Indophenol unter dem Einfluß des Sauerstoffs der Luft, wenn auch sehr langsam vor sich geht. Bringt man aber lebendes Gewebe in die Mischung, so erfolgte die Bläuung fast momentan. Ehrlich konnte durch Injektion solcher Lösungen in Kaninchen die Indophenolbildung in den Geweben deutlich verfolgen. R. S. Lillie (1902) hat dann die Methode zur Prüfung der Loebschen Theorie der Kernfunktion verwandt, indem er verschiedene Organe des Frosches mit den genannten Lösungen behandelte und untersuchte, ob die Bläuung innerhalb der Zellen gleichmäßig erfolgte oder ob sie in der Nähe des Kernes besonders stark auftritt. In der Tat fand nun Lillie, daß in Leber- und Nierenzellen, sowie roten Blutkörperchen die vitale Indiphenolsynthese fast ausschließlich in unmittelbarer Umgebung des Kernes stattfand, während peripher die Bläuung nur schwach auftrat oder fehlte. Lillie schließt daraus, daß in vielen Geweben der Kern als Organ zu betrachten sei, das der Aktivierung des Sauerstoffs diene.

Ich habe bei *Ascaris* in der gleichen Weise wie Lillie frisches Material vom Oesophagus (Zupfpräparate und Gefrierschnitte) sowie Alkoholmaterial in schwach alkalische äquimolecularе Lösungen von α-Naphtol und Paraphenylendiamin gebracht. Wohl trat in den Geweben eine schwache Blaufärbung ein, die aber stets gleichen Schritt hielt mit der Bläuung der Außenlösung, die demnach in der Oxydation durch den Luftsauerstoff ihren Grund hat. Eine stärkere Blaufärbung um Kern oder metachromatische Stränge konnte in keinem Fall beobachtet werden. Demnach scheint es in den *Ascaris*-Geweben nicht zu Oxydationsprozessen wie in den Geweben aerober Organismen zu kommen — wenn wir von dem bei der Fettbildung freiwerdenden Sauerstoff hier absehen — was schon die Stoffwechseluntersuchungen Weinlands gezeigt hatten. Es kann hier also auch nicht dem Kern die oxydative Rolle im Zelleben zukommen, die Loeb ihm wohl generell zuzuschreiben geneigt ist[1]). Erwähnt sei

[1]) Vielleicht wäre es dagegen denkbar, daß zwischen Kern und Plasma im kleinen ein ähnliches Verhältnis besteht, wie zwischen Tier und Pflanze im großen. Wie ein

schließlich noch, daß die Guajakreaktion wider Erwarten positiv ausfiel, insofern Stücke lebenden *Ascaris*-Gewebes in solche gebracht sich blau färbten, welchem Umstand ich aber mit Rücksicht auf die Unzuverlässigkeit dieser Reaktion kein Gewicht beilegen möchte.

ee) Die metachromatischen Stränge bei verwandten Formen.

Für die Frage nach der Natur der metachromatischen Stränge mußte es von größtem Interesse sein, einmal Formen auf das Vorhandensein dieser Bildungen hin zu untersuchen, die *Ascaris lumbricoides* nahe verwandt sind und unter ähnlichen Bedingungen leben wie jene. Für erstere kam zunächst *Ascaris megalocephala* in Betracht. Wir haben bereits gesehen und hier stimme ich durchaus mit GOLDSCHMIDT überein, daß bei diesen Nematoden die metachromatischen Stränge meist viel schwächer ausgebildet sind, im übrigen aber ein wesentlicher Unterschied *Ascaris lumbricoides* gegenüber nicht besteht. Von *Ascaris mystax* stand mir leider kein Material zur Verfügung. Dagegen mußte ich zu meiner größten Überraschung konstatieren, daß bei *Heterakis maculosa* aus dem Taubendarm, die ich in drei Exemplaren untersuchte, in keiner einzigen Oesophagusmuskelzelle ebensowenig wie in Körpermuskelzellen auch nur eine Spur von metachromatischen Strängen zu beobachten war, obwohl der Bau des Oesophagus dem von *Ascaris lumbricoides* sehr ähnlich ist (Text-

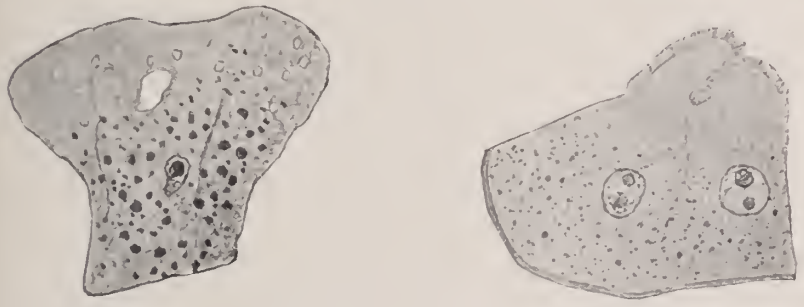
Textfig. G.

Flächenmuskelzelle des Oesophagus von *Heterakis maculosa* ohne metachromatische Stränge.

Tierleben ohne Pflanzen und umgekehrt unmöglich ist, so auch bei Kern und Plasma. Die Pflanze vermag es ja bekanntlich, die vom Tier als Endprodukt der Kohlenstoffverbrennung ausgeschiedene Kohlensäure direkt wieder zu assimilieren und so dem Kreislauf des Kohlenstoffs wieder zuzuführen. Das gleiche gilt vom Stickstoff für gewisse Bakterien. Man könnte demnach daran denken, daß gewisse Produkte im intermediären Stoffwechsel des Plasmas (vergleichbar der CO_2) verloren gehen müßten, wenn nicht gerade diese der Kern wieder zu einer Synthese verwenden könnte und umgekehrt, daß also etwa die Produkte der Dissimilation des Plasmas dem Kern die Bausteine zur Synthese der eignen Bestandteile und umgekehrt die Dissimilation der Kernsubstanzen dem Plasma Bausteine zur Plasmarekonstruktion liefert.

fig. G). Wohl aber findet man im Darm und in den Seitenlinien eine Unmenge stark lichtbrechender Tröpfchen, die sich bei Weigert-Heidenhain-Färbung stark tingieren (Textfig. H). Für Chromidien möchte ich sie nicht halten, glaube vielmehr, daß sie den besonders im Darm von *Ascaris lumbricoides* vorkommenden gelblichen Körnchen gleichzusetzen sind. Ebenso fand ich nichts von metachromatischen Strängen bei *Oxyuris vermicularis*. Ich habe ferner auf das Vorkommen solcher Bildungen hin die Muskulatur der Saugnäpfe verschiedener Trematoden und Cestoden untersucht wie *Fasciola hepatica*, *Dicrocoelium lanceolatum*, *Polystomum integerrimum*, *Taenia solium* und *saginata*, *Botriocephalus* usw., die, wie bereits oben erwähnt, sämtlich reichlich Glykogen enthalten und daher in Anbetracht des Umstandes, daß diese Tiere sämtlich einen ganz ähnlichen

Textfig. H.



Seitenlinie und Darmzellen von *Heterakis maculosa* mit starklichtbrechenden Körnchen.

Stoffwechsel wie *Ascaris* haben dürften, für die Entscheidung der Frage, ob in der Muskulatur parasitischer Würmer, die unter ähnlichen Verhältnissen wie *Ascaris* leben, solche Bildungen sonst noch vorkommen, besonders geeignet waren. Das Ergebnis war überall ein völlig negatives. Obwohl in vielen Fällen (*Polystomum*, einige Tänien usw.) die Kerne der Bildungszellen der Muskulatur der Saugnäpfe noch in aller Deutlichkeit vorhanden waren, konnte in solchen Zellen wie auch den übrigen nichts von irgendwelchen Bildungen beobachtet werden, die denen von *Ascaris lumbricoides* vergleichbar wären. — Ob bei andern *Ascaris*-Arten ähnliches vorkommt, müßte erst eine vergleichende Untersuchung lehren. Es scheint indessen, als ob die fraglichen Strukturen eine Besonderheit der beiden großen *Ascaris*-Arten *lumbricoides* und *megalocephala* wären.

ff) Pseudochromidienbildung und Chromatinsynthese bei Ascaris.

Es ist eine an den Muskelzellen der mittleren Körperregion von *Ascaris* leicht zu beobachtende Tatsache, daß nach Fixationen, bei denen

die ätherlöslichen Substanzen der Zelle nicht mitfixiert bzw. durch das Einbetten gelöst werden, in unmittelbarer Umgebung des Kernes sich stets Vacuolen finden (Fig. 19, Photos 2, 3). Bei der von mir angewandten Flemming-Fixierung zeigte sich nun, daß diese Vacuolen eine Substanz enthalten, die der Osmiumsäure gegenüber Reduktionsvermögen besitzt, das jedoch erheblich geringer ist als das des echten Fettes. Während letzteres die Osmiumsäure sehr kräftig reduziert, so daß an Stelle des Fettes stets kompakte schwarze Kugeln zu liegen kommen, die häufig einen gedellten Eindruck machen (Photos 9, 10), unterscheidet sich die Substanz, die sich in den Vacuolen um den Kern befindet, von diesem Verhalten sehr wesentlich. Oft hat sie überhaupt kein Reduktionsvermögen der Osmiumsäure gegenüber, so daß die betreffenden Vacuolen dann leer erscheinen (Fig. 16), was freilich auch davon herrühren kann, daß sie bereits vor der Fixierung leer waren. Die Regel aber ist, daß innerhalb der Vacuolen an einem Pol sich eine Art schwarzer Strahlung findet, die von durch Osmiumsäure geschwärzten Kristallbündeln herrührt, der Vacuole innen haubenartig anliegt (Fig. 16, 17, 18). Nun findet man diese Vacuolen aber nicht nur um den Kern, sondern in vielen Fällen kann man sie bzw. ihren Inhalt auch innerhalb des Kernes beobachten (Fig. 17, 18). Die Fig. 18 zeigt eine Vacuole innerhalb der Kernmembran liegend (durch Heben und Senken des Tubus läßt sich feststellen, daß es sich nicht etwa um eine Täuschung derart handelt, daß die Vacuole über oder unter dem Kern liegt). Die Fig. 16 und 17 zeigen ferner einzelne Vacuolen bzw. ihren Inhalt innerhalb des Kernes liegend. Daß also diese Vacuolen in inniger Beziehung zum Kern stehen, ist unzweifelhaft, zunächst nur schwer zu entscheiden, ob es sich hier um Aufnahme oder Abgabe von fettartiger Substanz handelt. Aus gleich zu besprechenden Gründen muß der Gedanke einer Substanzaufnahme näher liegen.

Bei seinen Untersuchungen über die künstliche Parthenogenese und den chemischen Charakter des Befruchtungsprozesses war Loeb (1908 u. 1909) zu der Auffassung gelangt, daß eine rasch einsetzende Nucleinsynthese das Moment sei, was die Entwicklung in Gang setzte. Die Frage war, aus welchem Material die Nucleinsynthese erfolgt. Da die Nucleoproteide bzw. Nucleinsäuren, die ja bekanntlich die Hauptmasse des Chromatins ausmachen, nach den Untersuchungen von Miescher und Burian (1906) ein Gerüst von Phosphorsäure besitzen, so ist klar, daß nur solche Körper, die Phosphorsäure enthalten, hierfür in Betracht kommen und hier sind es in erster Linie die im Tierkörper, besonders auch im Dotter weit verbreiteten Lecithine. — Loeb nimmt daher das Lecithin direkt als Bildner der Nucleinsäure in Anspruch. Was aber für das sich furchende Ei gilt

muß natürlich überhaupt für jede wachsende Zelle, in der Chromatinsynthesen stattfinden, Gültigkeit haben. Die *Ascaris*-Muskelzellen, die sich ja bekanntlich nicht durch Teilung vermehren, sondern ohne Teilung bis zu einer bestimmten Maximalgröße heranwachsen, wobei natürlich der Kern entsprechend mitwächst, werden also ebenfalls die Synthese bzw. Regeneration des Chromatins auf Kosten phosphorhaltiger Plasmabestandteile in erster Linie des Lecithins durchführen müssen. Nun verhält sich das Lecithin mikrochemisch ähnlich wie Fett (Deflandre 1904). Offenbar ist aber sein Reduktionsvermögen der Osmiumsäure gegenüber viel schwächer wie das des Fettes. Wir kommen also bereits zu der Vermutung, daß der Inhalt jener Vacuolen der *Ascaris*-Körpermuskelzellen ein dem Lecithin nahestehender Körper ist. Nun braucht man natürlich nicht nur an Lecithin zu denken. Abderhalden (1909) kommt zu der Überzeugung, daß die Lecithine nur die am besten bekannten Körper einer Reihe von Substanzen sind, die Tudichum mit dem gemeinsamen Namen »Phosphatide« bezeichnet hat. Diese Körper fehlen anscheinend in keiner Zelle und sind für das Zelleben von größter Bedeutung. »Wir stehen am Beginn eines noch kaum betretenen immensen Forschungsgebiets« sagt Abderhalden über diese Klasse von Verbindungen. Man wird also daran denken können, daß der Inhalt jener um den Kern der Körpermuskelzelle von *Ascaris* liegenden Vacuolen ein Phosphatid, vielleicht Lecithin, enthalte, das zur Regeneration oder Neubildung des Chromatins bestimmt ist. Es ist dabei von Interesse, daß Ciaccio (1910) angibt, daß die Lipoide, zu denen er ebenfalls Lecithin und die übrigen Phosphatiden rechnet, sich aus gewöhnlichen Fetten bilden können. Woher bei diesem Vorgang die Phosphorsäure kommt, gibt er freilich nicht an. Sind die Angaben Ciaccios zutreffend, so ergibt sich damit die Möglichkeit, für die Bildung der Phosphatide bei *Ascaris* die sich in der Subcuticula und den Seitenlinien findenden beträchtlichen Fettmengen verantwortlich zu machen.

Wir sahen bereits, daß auch innerhalb des Kernes solche Phosphatidvacuolen oder doch ihr Inhalt (Fig. 17, 18) zu finden ist. Es fragt sich nun, ob sich noch weitere morphologische Anhaltspunkte dafür, in welcher Weise die Neubildung des Chromatins erfolgt, finden lassen. In einer, wenn auch kleinen Zahl von Fällen, konnte ich nun in der Tat einige sehr auffallende Bilder finden, die weiteren Anschluß in dieser Richtung geben können. In den Körpermuskelzellen einer *Ascaris* mittlerer Größe von etwa 4—5 mm Durchmesser auf dem Querschnitt in der Körpermitte fanden sich nämlich in unmittelbarer Umgebung des Kernes eine Unmenge kleinerer und größerer Bröckchen und Kügelchen, die sich bei

Mallory-, Magenta-Pikroindigcarmin- und Delafield-Färbung genau so tingieren, wie das Chromatin des Kernes (Fig. 55—58, Photo 14). Nun würde dieser Umstand allein noch kein Beweis dafür sein, daß es sich hier um Chromatin bzw. eine Vor- oder Abbaustufe desselben handelt, wenn sich nicht noch zwei weitere schwer wiegende Gründe dazu gesellten. Einmal lassen sich direkte Durchtrittserscheinungen des »Prochromatins«, wie wir das außerhalb der Kernmembran liegende chromatische Material aus noch zu besprechenden Gründen nennen wollen, beobachten (Fig. 55—58). Während etwas weiter von der Kernmembran das Prochromatin in Form größerer Kugeln und Brocken auftritt, wird es nach der Kernmembran zu feinkörniger, um dicht an ihr in diffuser Form zu erscheinen (Fig. 56, 57 u. 58). Innerhalb des Kernes liegt an den entsprechenden Stellen das Chromatin in gleich feiner Verteilung der Kernmembran angelagert (Fig. 56—58), so daß sich hier Pro- und Innenchromatin überhaupt nicht mehr unterscheiden ließen, wenn nicht die Kernmembran beide trennte. Es kann keinem Zweifel unterliegen, daß hier in der Tat ein Durchtritt, entweder von Chromatin ins Plasma oder von Prochromatin in den Kern vorliegt. Wir werden gleich sehen, für welche Annahme wir uns entscheiden müssen. Überall da nämlich, wo ich das Vorhandensein von Prochromatin beobachten konnte, zeigte sich ein eigentümliches Verhalten der Stützfibrillen. Die Stützfibrillen, die, wie oben geschildert, normalerweise den Kern allseitig wie mit einem lockeren Geflecht umgeben, zeigen hier das Bestreben, sich dem Kern kappenförmig anzulegen (Fig. 20 u. 56, Photos 3, 4). Innerhalb der so gebildeten dichten Kappe liegt dann das Prochromatin meist in Vacuolen (Fig. 56, 57). Wird auf diese Weise bereits ein inniger Kontakt zwischen Prochromatin und Kern herbeigeführt, so kann es offenbar in manchen Fällen sogar zur Bildung einer neuen Kernmembran kommen, die dann den alten Kern zusammen mit dem Prochromatin umschließt. Vorstufen hierzu stellen vielleicht die Fig. 55, 56 und 57 dar. Einen ganz besonders deutlichen Fall aber geben Fig. 58 und Photo 14 wieder. Es ist hier kein Zweifel darüber möglich, zumal wenn man die folgenden Schnitte desselben Kernes verfolgt, daß sich tatsächlich um den alten Kern samt Prochromatin eine neue Kernmembran gebildet hat. Ich muß es allerdings dahingestellt sein lassen, ob die Neubildung der Kernmembran durch Aneinanderlegen von Stützfibrillen zustande kommt. So unwahrscheinlich etwas Derartiges a priori auch scheinen muß, so darf man doch nicht vergessen, daß die erhaltenen Bilder auf eine solche Art der Bildung hindeuten. Ich selbst muß es angesichts des Umstandes, daß eine solche Kernmembranbildung meines Wissens bisher weder be-

schrieben, noch aus physiologisch-mechanischen Gründen wahrscheinlich ist, dahingestellt sein lassen, in welcher Weise sich die neue Kernmembran bildet und mich mit der Feststellung der Tatsache, daß eine solche — wenn auch nur vereinzelt — wirklich erfolgt, begnügen.

In diesem Zusammenhang müssen wir noch die Befunde von Günthert (1910) erwähnen, der ähnliche Bilder bei der Eibildung der Dytisciden beobachtete. Er fand die Kernmembran des Eies nämlich umhüllt von Fibrillen, denen von ihm als Chromidien angesprochene chromatische Granula angelagert sind. Günthert erklärt das Zustandekommen solcher Bilder in folgender Weise: Innerhalb der ersten Kernmembran soll eine zweite entstehen, wodurch die zuäußerst gelegenen Chromatinpartikeln außerhalb des neuen Kernes zu liegen kommen, und die alte Kernmembran in einen fibrillären Strang umgewandelt wird. Dieser Prozeß soll sich nun ständig wiederholen und auf diese Weise die Chromidien und die konzentrisch um den Kern liegenden Fibrillen entstehen. Es bedarf wohl kaum der Erwähnung, daß die Existenz solcher Prozesse nicht gerade große Wahrscheinlichkeit besitzt, ich glaube auch nicht, daß die Günthertsche Deutung das Richtige trifft, sondern erwähne diese Untersuchung nur deshalb, weil sie in bezug auf den rein morphologischen Befund eine gewisse Ähnlichkeit mit den vorliegenden aufweist.

Es bleibt nun noch zu erläutern übrig, warum die beschriebenen Fälle nicht als eine Chromidienbildung im Sinne Goldschmidts aufzufassen sind. Zunächst scheinen die Befunde einer solchen Deutung ja sehr günstig zu sein, weshalb ich den Vorgang in der Überschrift auch als »Pseudochromidienbildung« bezeichnet habe. Dazu muß aber bemerkt werden, daß, wenn das Chromatin in fein verteilter Form die Kernmembran in der Richtung Kern → Plasma passierte, nicht einzusehen wäre, warum eine Strecke vom Kern entfernt es wieder zu größeren Brocken und Kugeln zusammenfließen sollte. Nimmt man dagegen an, daß das Prochromatin in den Phosphatidvacuolen und demgemäß in größeren Kugeln entsteht, so ist die Auflösung in feine Partikeln bei einer Wanderung in der Richtung Plasma → Kern verständlich, da die Auflösung in feinste Partikeln das Hindurchtreten durch die Kernmembran in den Kern hinein offenbar begünstigt. Dann ist zu bedenken, daß das Tier, dem diese Muskelzellen angehörten, noch im Wachstum war, wie bereits oben erwähnt, dementsprechend müssen also auch die Zellkerne wachsen. Vergleicht man nun die Fig. 17, 18, 19 und 58, die bei Komp.-Ocular 4 gezeichnet wurden, so fällt auf, daß der innere, primäre Kern der Fig. 58 gegenüber denen der Fig. 17, 18 und 19 viel kleiner ist.

Noch deutlicher ist vielleicht ein Vergleich der Photos 2 und 14, die mit Projektionsocular 2 angefertigt sind. Man sieht deutlich, daß der innere Kern der Fig. 58 und Photo 14 bereits in der Fläche ganz erheblich kleiner ist, als der der Fig. 19 und Photo 2, um wie viel mehr also im Raum. Allerdings ist der durch die neugebildete Kernmembran umgrenzte Kern wieder etwas größer als der der drei andern Zellen, was aber der Deutung der Vorgänge in gedachtem Sinne keine Schwierigkeit bereitet. Wenn wir nämlich die R. Hertwigsche Lehre von der Kernplasmarelation auf die *Ascaris*-Muskelzellen übertragen — und daß sie auch hier Gültigkeit haben muß, kann natürlich keinem Zweifel unterliegen —, so ergibt sich von selbst, daß das Wachstum des Plasmas ein solches des Kernes nach sich ziehen muß oder umgekehrt. Eine Kernvergrößerung und damit eine Chromatinneubildung ist also ein unumgängliches Postulat. Es scheint mir daher nur logisch, die beschriebenen Verhältnisse nicht als Ausstoßung, sondern Neubildung von Chromatin zu deuten.

Wir kommen demnach zu der Auffassung, daß es sich im vorliegenden Falle nicht um Chromidienbildung, sondern um eine Chromatinsynthese aus dem Plasma bzw. den Phosphatidvacuolen heraus handelt. Es scheint mir übrigens von Interesse, daß die Art und Weise wie die beschriebenen Vorgänge der Chromatinsynthese bei *Ascaris* erfolgen, mit den Anschauungen übereinstimmen, zu denen R. Hertwig (1902, 1903, 1905 u. 1907) durch seine und seiner Schüler Untersuchungen an Protozoen gelangte. Hertwig (1907) wird auf Grund der von ihm als »funktionelles Kernwachstum« bezeichneten Erscheinung zu der Annahme geführt, »daß der Kern dem Protoplasma Stoffe entnimmt und somit auf dessen Kosten wächst«. Die mitgeteilten Beobachtungen über die Chromatinsynthese in den Körpermuskelzellen von *Ascaris* entsprechen eben dem funktionellen Kernwachstum der Protozoenzelle nur mit dem Unterschied, daß wir hier die einzelnen Etappen dieses Prozesses genau verfolgen können.

b) Theoretischer Teil.

aa) Die Natur der metachromatischen Stränge.

Wenn wir nun an die Verwertung der mitgeteilten Befunde herantreten, so ergibt sich zunächst die Aufgabe, die Lehre vom Chromidialapparat der Metazoenzelle, die ihren Ausgang von den Verhältnissen bei *Ascaris* nahm, einer Revision zu unterziehen. Wir haben gesehen, daß sich die von Goldschmidt als Chromidialapparat aufgefaßten Bildungen der *Ascaris*-Zellen färberisch und mikrochemisch anders verhalten als

der Kern (Versuche mit Kalilauge, Pepsin-, Trypsinverdauung, verschiedene Färbeversuche). Nun könnte man zunächst zu der Auffassung versucht sein, daß, wenn Chromatin aus dem Kern ausgestoßen wird, dies sich sekundär im Plasma, oder bereits vor der Ausstoßung so verändert, daß es nunmehr nicht mehr die Reaktion des Chromatins zeigt. In der Tat hat Goldschmidt (1909/1910) diesen Schluß getan. Da nach seiner Auffassung jede Herstellung specifischer Zellprodukte wie allerart Fibrillen, Secret, Dotter usw. auf Chromidienbildung zurückgeführt werden muß, ist nach Goldschmidt eine selbstverständliche Folge dieser Anschauung, »daß die Chromidien nur direkt nach ihrem Austritt Chromatin darstellen, nachher je nach ihrer Funktion gründlichere oder geringere chemische Umwandlungen und Abbau erfahren. Für die vergleichend morphologische Betrachtung ist die sekundäre chemische Beschaffenheit gleichgültig, ist die ursprüngliche Herkunft aus Kernmaterial gesichert (von mir gesperrt, Ref.), so hindert eine verschiedenartig chemische Beschaffenheit nicht im geringsten, unter dem vergleichend-morphologischen Begriff des Chromidialapparats alle jene von mir früher genannten Strukturelemente zu betrachten«.

Man wird geneigt sein dem zunächst zuzustimmen, ja in einem Punkte möchte ich sogar noch weiter gehen als Goldschmidt. Erfolgt überhaupt ein »Chromatin«-Austritt, so braucht das ausgetretene Chromatin nicht einmal mehr »direkt nach dem Austritt« echtes Chromatin zu sein, ja es ist dies sogar gar nicht sehr wahrscheinlich. Wir werden noch weiter unten sehen, daß eine Chromatinabgabe seitens des Kernes offenbar eine mehr oder weniger erhebliche Umwandlung des Chromatins geradezu voraussetzt. — Nun ist aber der Begriff des Chromidialapparats von seinem Begründer R. Hertwig ja gerade auf Grund des gleichen mikrochemischen oder doch wenigstens färberischen Verhaltens der im Plasma befindlichen Chromidialsubstanz mit dem des Kernes im Verein mit der Tatsache, daß bei *Arcella* sich die Sekundärkerne aus dem Chromidialnetz (1899) bilden, aufgestellt worden. Auch M. Zülzer (1904) gelangt an *Difflugia urceolata* zunächst wenigstens gerade auf Grund des gleichen mikrochemischen Verhaltens von Kern und Chromidialnetz zu der Auffassung, daß beiderlei Substanzen von gleicher chemischer Beschaffenheit sind, wozu freilich dann noch der Nachweis kommt, daß die Bildung der Sekundärkerne in prinzipiell gleicher Weise wie bei *Arcella* erfolgt. (Weniger in Betracht kommen für die vorliegende Frage die hierher gehörenden Untersuchungen Schaudinns.) Allerdings erscheinen mir die von Zülzer ausgeführten Reaktionen, die die chemisch gleichartige Beschaffenheit von Kernchromatin und Chromidialnetz beweisen

wollen, nicht ganz einwandfrei, worauf ich noch zurückkomme. — Sicher aber ist, daß das gleiche mikrochemische Verhalten von Kernchromatin und Chromidialnetz mit zur Schaffung des Begriffes des Chromidialapparats beigetragen hat. Nun läßt sich dagegen natürlich einwenden, daß Chromatin und Chromidien sich mikrochemisch nur gleich verhalten können, nicht müssen, was wohl zugegeben ist, und so muß als weiteres und sicherstes Kriterium die direkte Beobachtung von Chromatinaustritt ins Plasma gefordert werden, wenn man im Zweifel sein kann, ob es sich im gedachten Falle um Chromidien handelt oder nicht. Goldschmidt (1909/1910) weist in den Worten . . . »ist die ursprüngliche Herkunft aus Kernmaterial gesichert . . .« selbst ausdrücklich darauf hin. Wie liegen nun in dieser Hinsicht die Verhältnisse bei *Ascaris?* Über Chromatinaustrittserscheinungen äußert sich Goldschmidt (1905) selbst sehr zurückhaltend, wird aber freilich zur Annahme solcher durch theoretische Erwägungen gezwungen. Ich selbst konnte, wie mehrfach erwähnt, niemals einen Chromatinaustritt beobachten. Doch bliebe noch die Möglichkeit, daß der Chromatinaustritt in ganz jungen Entwicklungsstadien bzw. im Ei erfolgt (man denke z. B. an den vielfach beschriebenen Chromatinaustritt auf dem Bukettstadium), und sich daher beim mehr oder weniger erwachsenen Tier der Beobachtung entzieht. Goldschmidt scheint an diese letzte Möglichkeit selbst gedacht zu haben, doch auch sie muß bei näherer Betrachtung fallen. Zunächst muß es als sehr unwahrscheinlich erscheinen, daß solche auf ganz frühen Embryonalstadien oder gar im Ei ausgetretene Chromatinmassen nicht alsbald zerfallen, sondern sich innerhalb der Zellen während des ganzen Lebens intakt erhalten. Dann aber haben wir gesehen, daß es wahrscheinlich ist, daß sich während des Hungerns die metachromatischen Stränge in dem Maß vermehren als das Glykogen abnimmt. Wenn eine solche Vermehrung wirklich stattfindet, so müßte bei den beträchtlichen Mengen von metachromatischen Strängen, die sich vorfinden, die Beobachtung von Chromatinaustritt ein leichtes sein. Ich sah etwas Derartiges niemals. — Wenn ferner die Angaben Goldschmidts darüber zu Recht bestehen sollten, daß durch energische Muskelarbeit — hervorgerufen durch Tetanisierung oder Alkoholreizung —, die Zahl der metachromatischen Stränge so erheblich vermehrt wird, wie Goldschmidt (1905) dies beschreibt und abbildet, so müßten sich — wenn man nicht annehmen will, daß die Stränge sich durch Teilung und Eigenwachstum vermehren — in diesem Falle geradezu massenhafte Chromatinaustritte finden lassen: das Gegenteil ist der Fall. Goldschmidt konnte offenbar nach jenen Reizversuchen nicht einen sicheren Chromatinaustritt beobachten, da er ihn sonst sicher

abgebildet hätte. — Auffällig bleibt allerdings die starke Anhäufung der Stränge um den Kern herum. Wenn man aber bedenkt, daß gerade in dieser Zone sich die lebhaftesten Stoffwechselprozesse abspielen dürften, daß ferner speziell bei den Oesophagusmuskeln das Plasma der Bildungszellen sich nur in relativ geringer Menge rings um den Kern befindet, die metachromatischen Stränge also, wenn sie im nicht differenzierten Plasma entstehen, in ihrer Hauptmasse gar nicht anders liegen können, als dicht um den Kern herum, so kann auch dieser Umstand nicht für eine nucleäre Entstehung der metachromatischen Stränge verwertet werden.

Ist demnach eine Neubildung der metachromatischen Stränge beim erwachsenen Tier erwiesen und läßt sich bei dieser Neubildung ein Chromatinaustritt nicht beobachten, so muß die nucleäre Natur des »Chromidialapparats« zum mindestens höchst problematisch erscheinen.

Nun hat zwar Ehrlich (1909) die Goldschmidtschen Befunde über den Chromidialapparat der Darmepithelzellen bestätigt, da er aber, wie bereits oben erwähnt, ebensowenig wie ich jemals einen Chromatinaustritt innerhalb dieser Zellen beobachten konnte, bezieht sich seine Bestätigung, wie schon betont, wohl nur auf die rein morphologischen Befunde, nicht aber auf die Deutung. Daß es sich auch hier nicht um einen echten Chromidialapparat handeln kann, habe ich, wie ich glaube, oben gezeigt. Die fraglichen Bildungen im Darmepithel unterscheiden sich grundsätzlich von denen der Muskelzellen und können daher mit diesen nicht verglichen werden. Ich habe bereits oben darauf hingewiesen, daß es sich möglicherweise bei den Strukturen der Darmzellen um den morphologischen Ausdruck einer Eiweißresorption handelt. Völlige Sicherheit ließ sich über diesen Punkt nicht erreichen.

Wenn nun aber die Goldschmidtsche Auffassung jener Zellstrukturen das Richtige nicht trifft, was sind sie, und welche Funktionen haben sie dann? — Wenn wir von der gänzlich verfehlten Auffassung Vejdovskys und Bileks absehen, auf die ich weiter unten zurückkomme, so kämen zunächst noch die Anschauungen von Benda, Duesberg und Meves in Betracht. Da Duesberg (1910b) und Meves (1909, 1910a) so wie Hoven (1910) den Nachweis erbracht haben, daß aus den von ihnen als Chondriosomen, Chondriokonten usw. bezeichneten Plasmastrukturen die verschiedenartigsten Zellbestandteile wie Neuro-, Myo- und Stützfibrillen hervorgehen, könnte auch bei *Ascaris* an etwas Derartiges gedacht werden; etwa in der Weise, daß die metachromatischen Stränge zur Bildung von Muskelfibrillen dienten. Indessen vermochte ich nirgends einen Anhaltspunkt für eine solche Auffassung zu finden. Wir müssen uns daher nach einer andern Erklärung umsehen.

Wir sahen bereits oben, daß anscheinend gewisse Wechselbeziehungen zwischen Glykogen und metachromatischen Strängen derart bestehen, daß sich bei viel Glykogen wenig oder keine, bei wenig oder keinem Glykogen dagegen reichlich metachromatische Stränge finden. Bei jedem Erklärungsversuch muß ferner die höchst auffallende Tatsache Berücksichtigung finden, daß die metachromatischen Stränge sich in ihrer typischen Form nur in Muskelzellen finden, da, wie wir bereits sahen, die in Darmepithel, Follikelzellen, Drüsenzellen beschriebenen Bildungen, soweit sie überhaupt vorkommen, jedenfalls den der Muskelzellen nicht analog sind und den übrigen *Ascaris*-Zellen die fraglichen Strukturen gänzlich fehlen. Allerdings ist eine gewisse Einschränkung hier notwendig. — Wir haben oben gesehen, daß entgegen den Goldschmidtschen Angaben sich in den Kantenzellen des Oesophagus metachromatische Stränge finden. Goldschmidt nahm an, daß, da er diesen Zellen rein stützende, also passive Funktion zuschrieb, im Einklang mit seiner Auffassung, nach der Chromidienbildung ja nur in »lebhaft funktionierenden Gewebszellen« vorkommt, eine Chromidienbildung innerhalb jener nicht vorkommen könne. Kommt sie dennoch vor, so bleibt nur die Möglichkeit, daß entweder das Auftreten von metachromatischen Strängen nichts mit der Zellfunktion zu tun hat, was mir nicht wahrscheinlich erscheint, oder aber anzunehmen, daß jene Kantenzellen bzw. deren Fibrillen ebenfalls kontraktil sind. Akzeptiert man letztere Auffassung, so weicht das Vorkommen von metachromatischen Strängen innerhalb dieser Zellen nicht von der Regel ab. Indessen bleibt noch ein erst ganz neuerdings bekannt gewordener Fall über Vorkommen von metachromatischen Strängen innerhalb der Ganglienzellen von *Ascaris* zu erwähnen, der eine Ausnahme von der Regel darstellt. Goldschmidt (1910) fand in den sich entsprechenden Ganglienzellen Nr. 24 und 25 metachromatische Stränge, von ihm hier als Tigroidschleifen bezeichnet, die sich anscheinend in nichts von den aus den Muskelzellen bekannten unterscheiden. Es ist dies der einzige bekannt gewordene Fall, bei welchem sich typisch metachromatische Stränge in einer nicht kontraktilen *Ascaris*-Zelle finden. Wenn wir aber von diesem, ganz von der Regel abweichenden Fall absehen, so kann man sagen, daß die fraglichen Strukturen sich ausschließlich in Muskelzellen finden. Dieser Umstand im Verein mit der wahrscheinlichen Reziprozität zwischen metachromatischen Strängen und Glykogengehalt der Muskelzellen müßten, so sollte man meinen, uns den Schlüssel für das Verständnis jener Bildungen bieten. Man könnte daran denken, daß die metachromatischen Stränge etwa den Charakter von Glykoproteiden hätten. Es sind das noch wenig bekannte Verbindungen, die, wie der

Name sagt, aus einer Eiweiß- und einer Kohlehydratkomponente bestehen. Man kann sie sowohl als Reservesubstanzen auffassen, als auch als Eiweißkörper, die die Fähigkeit besitzen, mit Kohlehydraten labile Verbindungen einzugehen. Es ist ohne weiteres einleuchtend, daß die Bedingungen für die Bildung solcher Glykoproteide in Zellen, die so reichlich Glykogen enthalten wie die *Ascaris*-Zellen, besonders günstig sind. Wollte man nun aber in den metachromatischen Strängen Glykoproteide vom Charakter einer Reservesubstanz erblicken, so ist nicht einzusehen, warum in Hungerversuchen diese Reservesubstanz nicht verschwindet. Will man dagegen die Stränge für Eiweißkörper halten, die etwa im Zusammenhang mit der Muskeltätigkeit Kohlehydrate zu binden vermögen, so könnte man eine solche Annahme in Beziehung zu den Verwornschen Anschauungen über die Regeneration des Biogenmoleküls bringen. Man könnte mit Verworn annehmen, daß bei der Muskelarbeit der stickstoffhaltige Komplex des Eiweißmoleküls mit Hilfe der Kohlehydrate den verbrauchten stickstofffreien Teil regeneriert. Ich habe aber bereits betont, daß ich mich zu einer solchen Annahme nicht entschließen kann. Ganz abgesehen davon aber bietet uns das morphologische Bild nicht genügend Anhaltspunkte für eine solche Auffassung. Besonders aber der Umstand, daß bei *Ascaris* nahe verwandten Arten, wie *Heterakis maculosa*, deren Glykogenverhältnisse denen von *Ascaris* völlig analog sind, solche metachromatische Stränge sich nirgends finden, bereitet beiden Annahmen die größte Schwierigkeit. Aber nicht nur die genannten, sondern auch alle andern Vorstellungen, die man über die Natur der metachromatischen Stränge haben kann, stoßen angesichts des Umstandes, daß soweit bekannt die fraglichen Strukturen, abgesehen von der obenerwähnten Ausnahme, sich ausschließlich in den Muskelzellen von *Ascaris megalocephala* und *lumbricoides* finden, auf erhebliche Hindernisse. Wenn man nun auch jene Bildungen unter den Begriff der Chondriokonten fassen könnte, so wäre damit wohl nicht viel gewonnen. Ganz abgesehen davon, daß das Vorkommen von typischen Chondriokonten in ausgewachsenen somatischen Zellen nicht wahrscheinlich, da sie nach Meves und Duesberg bereits während des Embryonallebens zur Bildung specifischer Zellprodukte verwandt werden. — Ebensowenig kann es natürlich befriedigen, wenn wir die fraglichen Strukturen unter den Begriff des »protoplasma supérieur« oder »Ergastoplasma« bringen. da mit solchen Termini nichts erklärt, sondern an die Stelle einer Unbekannten eine zweite gesetzt wird. Daß auch die versuchte Homologisierung von Trophospongien, Apparato reticulare und endocellare, Centrophormien, Pseudochromosomen usw. mit den metachromati-

schen Strängen nicht durchzuführen ist, wird weiter unten noch zu besprechen sein.

Man könnte nun versucht sein, wenn sich aus dem eigentümlichen Stoffwechsel von *Ascaris* die Verhältnisse nicht erklären lassen, an eine Anpassung an den Wirt zu denken. — Weinland (1903) konnte nachweisen, daß in den aus *Ascaris lumbricoides* erhaltenen Preßsäften sich zwei Antifermente finden, ein Antipepsin und ein Antitrypsin, die das Tier vor dem Verdautwerden durch die proteolytischen Fermente des Wirtes schützen. Wollte man aber die metachromatischen Stränge hiermit in Beziehung bringen, so sollte man annehmen, daß sich ähnliche morphologische Verhältnisse bei andern Darmparasiten auch finden mußten. Wir wissen, daß dies nicht der Fall ist. Als weitere Möglichkeit wäre daran zu denken, daß die metachromatischen Stränge zu den sogenannten »Muskelextraktivstoffen« zu rechnen wären. Solche Körper sind z. B. Kreatin und Kreatinin, die aber nur von Wirbeltieren her bekannt sind (v. Fürth 1903). Ferner kommen besonders bei Wirbellosen in der Muskulatur Körper der Puringruppe wie Xanthin, Hypoxanthin, Guanin vor, ferner von Aminosäuren: Tyrosin und Leuzin. Alle diese Körper kristallisieren aber in wohlbekannten Formen, so daß sie natürlich, falls überhaupt fixierbar, als Kristalle und nicht als kolloidale Eiweißkörper mit allen ihren Eigenschaften im mikroskopischen Bild erscheinen müßten. Wohl aber läßt sich denken, daß die metachromatischen Stränge Vorstufen in der Bildung solcher specifischer Extraktivstoffe darstellen, die noch echten Eiweißcharakter tragen.

Wenn wir also die Resultate unsrer bisherigen Betrachtungen zusammenfassen, so läßt sich einmal feststellen, daß die sogenannten »Chromidialstränge« der *Ascaris*-Muskelzellen im erwachsenen Tiere nicht als Kernderivate zu erweisen sind. Ihrer Natur nach könnte man sie als Glykoproteide oder Vorstufen eines Muskelextraktivstoffes ansprechen. (Eine weitere Möglichkeit kann erst weiter unten erörtert werden.) Sicherheit läßt sich hierüber nicht erzielen. Jedenfalls scheint es sich bei *Ascaris* in den fraglichen Strukturen um eine Bildung sui generis zu handeln[1]).

[1]) Ich muß hier noch eine irrtümliche Angabe Jörgensens über meine Untersuchungen, die ohne meine Redaktion erfolgt ist, richtig stellen. Jörgensen (1910) schreibt S. 594 und 595, daß sich durch meine Untersuchungen herausgestellt habe, daß die von Goldschmidt beschriebenen Chromidien »Stoffwechselprodukte des Glykogens« seien. Diese Angabe entspricht, wie ja unmittelbar aus dem Vorstehenden hervorgeht, nicht den Tatsachen und ist daher als irrtümlich zu streichen.

bb) Beziehungen zwischen Chromidialsubstanz, Kern und Kohlehydraten bei Protozoen.

Nun muß an dieser Stelle auf eine Untersuchung eingegangen werden, die sich ebenfalls mit den Beziehungen zwischen Chromidien und Kohlehydratstoffwechsel befaßt, da sie mit den hier erörterten Fragen im nahen Zusammenhang steht.

Es ist das die Untersuchung von M. Zülzer (1904). Zülzer konnte zunächst in Analogie mit den Befunden R. Hertwigs (1899) an *Arcella* ein ähnliches Chromidialnetz bei *Difflugia urceolata* beobachten. Innerhalb dieses Chromidialnetzes liegen Körner eines Kohlehydrats, das sich als solches durch seine rötlich-braune Färbung bei Jodbehandlung, sowie durch seine leichte Löslichkeit in Speichel erweist. — Was zunächst Zülzers Angaben über das Chromidialnetz anlangt, so läßt sich gegen die rein morphologischen Daten nichts einwenden, wohl aber gegen die Versuche, die beweisen sollen, daß Kernchromatin und Chromidialsubstanz sich mikrochemisch gleich verhalten. Zülzer behandelte Schnitte mit Pepsin und fand, daß Kerne und Chromidialsubstanz dabei nicht gelöst werden; umgekehrt wurden bei Trypsinverdauung beide gelöst. Letzterer Versuch scheint mir nicht viel zu beweisen, da natürlich das Protoplasma dabei auch verdaut wird. Ganz abgesehen davon, daß die Zülzersche Angabe, wonach Trypsin Nucleine löst, nicht richtig sein kann. Faßt man mit Röhmann (1908) und Abderhalden (1909) die Nucleine als Spaltungsprodukte von Nucleoproteiden, die noch Eiweiß enthalten, auf, und die dann weiter in Eiweiß und Nucleinsäure gespalten werden, so könnte nach Abderhalden Trypsin im besten Fall eine Spaltung der Eiweißkomponente, niemals aber der Nucleinsäure bewirken. Das einzige bekannte Ferment, das dies vermag, ist nach den Untersuchungen von Sachs (1905) die Nuclease. Hätte Zülzer übrigens mit Pepsin angedaut und die Verdauung mit Trypsin zu Ende geführt, wie ich dies getan habe, so wäre das Resultat wahrscheinlich ein andres gewesen. — Zülzer gibt ferner an, daß 1%ige Kalilauge die Nucleine und demgemäß Kern und Chromidialsubstanz der Difflugien löst (es ist dabei nicht ganz klar, ob Zülzer die Gerüstsubstanz oder die stark färbbaren Einlagerungen des Chromidialnetzes oder beides meint). Aus den Zülzerschen Angaben geht aber nicht hervor, ob diese Kalilaugeversuche an frischem oder fixiertem Material angestellt worden sind. Nach den Angaben von Lee und Mayer, die durch meine Versuche vollauf bestätigt wurden, ist Chromatin (das Zülzer mit Nuclein, besser aber mit Nucleoproteiden identifiziert) in fixiertem Zustand selbst in 35%iger Kalilauge unlös-

lich. Wie die Zülzerschen Angaben also aufzufassen sind, vermag ich nicht zu entscheiden. Doch nehmen wir einmal an, die Chromidialsubstanz enthielte in Analogie mit Hertwigs Befunden Chromatin, was ja durch den Umstand, daß sich aus ihr die Sekundärkerne entwickeln sollen, wahrscheinlich ist, — obgleich Zülzer an andrer Stelle selbst sagt: »jedenfalls aber spricht das Vorhandensein von Kohlehydratkörnern gegen die Kernnatur der Chromidialsubstanz« —, so scheint mir doch der Nachweis dafür nicht erbracht, daß diese Chromidialsubstanz die in ihr enthaltenen Kohlehydratkörner, die im Frühling fehlen, um erst im Herbst aufzutreten, wirklich bildet. Zülzer vermag auch sichtlich die Vorstellung von der chromatischen Natur des Chromidialnetzes und seiner Befähigung, ein glykogenartiges Kohlehydrat zu bilden, nicht recht zu vereinigen. Und so muß denn, wie mir scheinen will, die Frage darüber, ob etwas Derartiges bei *Difflugia* erfolgt, so lange offen bleiben, bis weitere Untersuchungen über den gleichen Gegenstand die Verhältnisse geklärt haben werden.

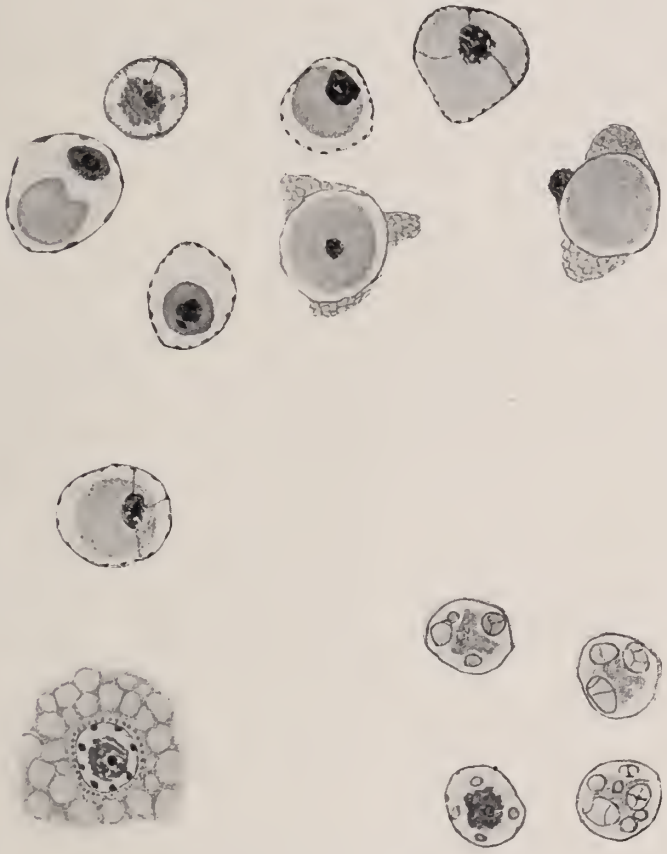
Ich habe diese Untersuchung hier deshalb eingehender besprechen müssen, weil sie die einzige ist, die sich mit den Beziehungen zwischen Chromidialapparat und einem glykogenartigen Kohlehydrat beschäftigt, wenn wir von den gleich zu erwähnenden fragmentarischen Beobachtungen Goldschmidts an *Pelomyxa* absehen. Wir haben dabei gesehen, daß die Zülzerschen Untersuchungen nichts enthalten, was auf die Verhältnisse bei *Ascaris* Licht zu werfen vermöchte. Das gleiche gilt für folgende Beobachtungen an *Pelomyxa*, die mir von Herrn Professor Goldschmidt zur Veröffentlichung übergeben wurden, da sich in der Literatur einige unrichtige diesbezügliche Angaben befinden. Ich kann mich dabei im wesentlichen auf eine bereits von Ehrlich (1909) gegebene Darstellung der Verhältnisse beziehen.

Goldschmidt findet bei *Pelomyxa* Bildung von Riesenkernen, die in bestimmtem Zusammenhang mit den im Plasma auftretenden Glanzkörpern stehen. In den Kernen findet sich nämlich neben dem Chromatin ein plastinartiger Binnenkörper, der stark wächst, wobei das in einen Klumpen zusammengeballte Chromatin peripher verlagert wird, um schließlich aus dem Kern ausgestoßen zu werden. Der plastinartige Binnenkörper wird nach Verlust der Kernmembran zu einem Glanzkörper, der nunmehr zum größten Teil aus Glykogen besteht. Durch Speichelbehandlung läßt sich zeigen, daß die Glanzkörper nur zum Teil aus Glykogen, zum andern Teil aus einer Art »Trägersubstanz« bestehen, was bereits Stolc (1900) angibt. Soweit die Beobachtungen Goldschmidts, dessen gemeinsam mit Weinland ausgeführte chemische

Untersuchung dieser Verhältnisse noch nicht publiziert ist (vgl. die beistehende Textfig. J).

Ich muß gestehen, daß, wenn es sich herausstellen sollte, daß die Verhältnisse tatsächlich so liegen, der ganze Prozeß im höchsten Grade

Textfig. J.



Bildung von Riesenkernen bei *Pelomyxa*. Der plastinartige Binnenkörper des Kernes wird zu den glykogenhaltigen Glanzkörpern (nach R. Goldschmidt).

auffällig wäre. Es kann keinem Zweifel unterliegen, daß das Glykogen im Tierkörper niemals direkt als Produkt irgend einer regressiven Eiweißmetamorphose entsteht, sondern stets durch Polysaccharidbildung, also durch Synthese. Die Goldschmidtschen Befunde sind aber kaum anders zu deuten, als daß eben jener plastinartige Binnenkörper des Kernes, der nach allen unsern Erfahrungen Eiweißnatur haben muß, sich wenigstens zum Teil in Glykogen umwandelt. Ein, wie gesagt, physiologisch-chemisch

unerklärlicher Prozeß. — Im Gegensatz zu den hier auf Grund der Mitteilungen Professor Goldschmidts gegebenen Darstellungen stehen die ebenfalls auf mündlichen Mitteilungen Goldschmidts zurückgehenden Angaben Růžičkas (1906). Er zitiert irrtümlicherweise, daß Goldschmidt die Glanzkörper von *Pelomyxa* den Chromidien beigerechnet hat. — Ähnlich v. Provazek (1910), der meint, daß nach Goldschmidt die Glanzkörper als Endprodukt der regressiven Metamorphose der Chromidien zu betrachten seien, was ebenfalls falsch zitiert ist, wie aus der oben gegebenen Schilderung unmittelbar hervorgeht.

cc) Interpretation der Goldschmidtschen Befunde durch Vejdovsky und Bilek.

Wir haben oben gesehen, welche Vorstellungen man sich über die Natur der metachromatischen Stränge machen kann, dabei aber die von Vejdovsky (1907) und Bilek (1909, 1910a, b) gegebene Interpretation der Verhältnisse nicht berücksichtigt. Das soll nun nachgeholt werden. Zwar haben Ehrlich (1909) und Goldschmidt (1909/1910) die Vejdovsky-Bilekschе Auslegung bereits zum Teil widerlegt, da jedoch Bilek (1910b) neuerdings das Wort ergreift, um seine Auffassung zu rechtfertigen, sehe ich mich genötigt auf die Kontroverse ebenfalls einzugehen.

Vejdovsky (1907) kommt auf Grund gelegentlicher Studien an den Körper-, Muskel- und Darmzellen von *Ascaris ensicaudata* zu dem Schluß, daß der von Goldschmidt beschriebene Chromidialapparat nichts anderes sei, als infolge mangelhafter Technik hervorgerufene Quellungs- und Zerreißungsbilder von Stützfibrillen. Vejdovsky schließt das daraus, daß er ähnliche Bilder, wie Goldschmidt sie bei *Ascaris lumbricoides* und auch *megalocephala* beschrieb, bei seinem Objekt nicht finden konnte. Ehrlich (1909) weist mit vollem Recht darauf hin, daß das natürlich nichts beweist: was bei *Ascaris ensicaudata* fehlt, kann bei *lumbricoides* vorhanden sein und umgekehrt. Man denke nur an die mitgeteilten Unterschiede zwischen *Ascaris lumbricoides* und *Heterakis maculosa*. Es kommt hinzu, daß ich ja auch bei *Ascaris lumbricoides* in den Muskelzellen der mittleren Körperregion die fraglichen Strukturen in keinem einzigen Fall beobachten konnte, und wie es sich mit den Darmzellen verhält, wurde oben auseinandergesetzt. Vejdovskys Einwände scheiden somit von selbst aus der Betrachtung aus.

Nun hat Vejdovskys Schüler Bilek die Verhältnisse bei *Ascaris lumbricoides* und *megalocephala* untersucht und kommt ebenfalls zu dem Resultat, daß Goldschmidt nur »gröbste Artefakte« vorgelegen haben,

entstanden »infolge der verfehlten Konservierungsmethoden und ungenügenden Behandlungsweise der mikroskopischen Präparate«. Nun hat Goldschmidt (1909/1910) bereits gezeigt, auf welcher Seite »verfehlte Konservierung und Artefakte« zu suchen sind, ich kann mich daher kurz fassen. Wie die Verhältnisse bezüglich des Fibrillenverlaufs und der Wabenstruktur der Körpermuskelzellen liegen, ist oben auseinandergesetzt worden. In diesem Punkt ist wohl Bilek im Recht, doch nun weiter. Das von Apathy und Schneider zuletzt von Goldschmidt beschriebene Füllgewebe hält Bilek für Kunstprodukt (niedergeschlagene lymphatische Leibeshöhlenflüssigkeit). Ich verweise auf die oben gegebene Schilderung sowie nochmals auf Fig. 42 und Photo 14, welche die Interstizialmembran Apathys = Isolationsgewebe Goldschmidts bzw. dessen Bildungszelle aufs deutlichste zeigt. Bilek hat infolge »verfehlter Konservierungsmethode« davon nichts gesehen, was er wohl auch inzwischen eingesehen hat, da er in seiner letzten Mitteilung (1910b) auf diesen Punkt nicht mehr zurückkommt. Die allbekannte Tatsache, daß die Markbeutelfortsätze mit den Nervenfasern verschmelzen, bestreitet Bilek, ebenso den Durchtritt von Stützfibrillen der Körpermuskelzellen in die Subcuticula, was nach den auf die Fibrillenfärbung angelegten Präparaten Goldschmidts, wie ich mich selbst überzeugen konnte, unzweifelhaft ist und Photo 5 deutlich zeigt[1]).

Den Stäbchensaum des Darmepithels bei *Ascaris lumbricoides* hat Bilek ebenfalls nicht gesehen, nach ihm sind die Darmzellen »am proximalen der Leibeshöhle zugekehrten Pole, sowie am distalen, dem Darmlumen zugekehrten, von einem homogenen, klaren, cuticulaartigen Saume begrenzt« (von mir gesperrt, Ref.). Es fällt Bilek nicht einmal auf, daß er bei *Ascaris megalocephala* den Stäbchensaum gesehen und abgebildet hat, bei *Ascaris lumbricoides* aber nicht. Daß bei »verfehlter Konservierungsmethode« der Stäbchensaum zu einem »klaren cuticulaartigen Saume« verklebt, weiß jeder, der *Ascaris* je bearbeitet hat. — Schließlich konnte Bilek die fraglichen Zellstrukturen auch nicht in den »Oesophaguszellen der beiden großen Ascaridenarten« finden. Ich habe die entsprechenden Verhältnisse oben eingehend ge-

[1]) Anm. b. d. Korrektur: Leider ist die Reproduktion gerade dieser Mikroaufnahme so gut wie mißlungen. Da eine nochmalige Reproduktion — Korrektur ist bei dem Verfahren nicht möglich — die Publikation der Arbeit — deren Erscheinen sich ohne dies infolge von Schwierigkeiten bei der Reproduktion der Abbildungen länger als mir lieb war verzögert hatte — abermals hinausgeschoben hätte, muß ich auf eine einwandfreie Illustration der fraglichen Verhältnisse leider verzichten. —

schildert und verweise nochmals auf die Fig. 8, 48 und Photos 11—13. Bilek erklärt eben alles, was er nicht finden konnte, für zerrissene Stützfibrillen. Wie sollten aber die beschriebenen Strukturen der Oesophagusmuskelzellen und der großen Muskelzellen des Schwanzendes ihre ihnen von Vejdovsky und Bilek unterschobene stützende Funktion erfüllen. Die Stränge liegen frei im Plasma ohne in irgendeiner Verbindung etwa mit der cuticularen Grenzlamelle oder der cuticularen Innenauskleidung des Oesophagus zu stehen! Besonders deutlich zeigen diese Verhältnisse die Dilatatoren des Chylusdarms, die ja keinerlei cuticularen Umgrenzungen besitzen wie die Oesophagusmuskelzellen, wo sollte hier der Insertionspunkt für solche ja geradezu ungeheuren Stütz-»Fibrillen« liegen, wie sie die Fig. 50 und Photo 15 zeigen! Die Fig. 50 zeigt aber auch deutlich den Verlauf der feinen Stützfibrillen, die natürlich schon wegen ihrer Feinheit niemals die Bildung solch mächtiger Stränge wie in jener Figur veranlassen können. Daß aber manchmal, wenn streckenweise mehrere Fibrillen nebeneinander verlaufen wie in Fig. 50 bei mangelhafter Beobachtung ähnliche Bilder wie Goldschmidt und ich sie übereinstimmend beschrieben haben, vorgetäuscht werden können, zeigt diese Abbildung. Auf Photo 1 sind überdies Skeletfibrillen und metachromatische Stränge einer Körpermuskelzelle des Kopfabschnittes nebeneinander zu sehen.

Ja aber mehr noch, man kann die fraglichen Zellstrukturen sogar an lebenden oder überlebenden Zellen beobachten. Präpariert man den Oesophagus eines lebenden Tieres heraus, was innerhalb weniger Sekunden leicht gelingt, und bringt ihn in physiologischer Kochsalzlösung auf den Objektträger, so kann man bereits bei Anwendung mittelstarker Vergrößerungen, die stark lichtbrechenden, vielfach gewundenen und verschlungenen metachromatischen Stränge in den Flächenzellen beobachten!

Ich glaube, es kann nunmehr keinem Zweifel unterliegen, auf wessen Seite die »verfehlten Konservierungsmethoden und ungenügende Behandlungsweise der mikroskopischen Präparate« zu suchen sind, und man kann wohl nur hoffen, daß Bilek sich im Laufe der in Aussicht gestellten weiteren Untersuchungen über die Histologie von *Ascaris* ein größeres Maß von Reserve in der Beurteilung der Resultate andrer Forscher auferlegt[1]).

[1]) Übrigens ist es doch wohl unzulässig, »Photogramme« in der Weise wie Bilek (1910b) das tut, zu verwenden. Die in der Bilekschen Mitteilung reproduzierten »Photogramme« sind offenbar Reproduktionen nach entweder stark retouchierten Mikroaufnahmen oder von nach Mikroaufnahmen angefertigten Zeichnungen, in welchem Sinne ja eventuell auch Bileks Erläuterungen aufzufassen sind. Beweisende Kraft besitzen solche »Photogramme« natürlich nicht.

Wir müssen also die Kritik und Interpretation der Goldschmidtschen Befunde seitens Vejdovsky und Bilek in allen Punkten als verfehlt ablehnen. Allerdings haben wir gesehen, daß auch die Auffassungen Goldschmidts sowie deren teilweise Bestätigung durch Ehrlich (1909) in einem sehr wesentlichen Punkte einer Korrektur bedürfen, nämlich, daß die von Goldschmidt als Chromidialapparat beschriebenen Strukturen nicht als Kernderivate aufzufassen sind, zum mindesten ihre Herkunft aus dem Kern nicht erwiesen ist. Das Wesentliche dieser Strukturen ist, wie Goldschmidt richtig erkannte, daß sie nicht statische, stützende, sondern dynamische, funktionelle Bedeutung haben.

dd) Neuere Untersuchungen über die Chromidien der Metazoen.

Die Goldschmidtsche Lehre vom »Chromidialapparat« der Metazoenzelle, zu der seine Befunde an *Ascaris* die Grundlage geliefert haben, hat in der Folge eine Reihe von Untersuchungen gezeitigt, die für diese Lehre weiteres Beweismaterial liefern sollten. Auf alle diese Arbeiten einzugehen liegt kein Grund vor. Ich kann aber nicht umhin, einen Teil derselben mit in den Kreis unserer Betrachtungen zu ziehen, da es auf Grund vorliegender Untersuchungen selbstverständlich ist, den Versuch zu unternehmen, die neueren Angaben, die bestimmt sind, jene Lehre zu stützen und zu erweitern, auf ihre Richtigkeit hin zu prüfen.

Da ist zunächst eine Arbeit von Moroff (1909) zu nennen. Moroff kommt auf Grund seiner Beobachtungen an Copepoden zu dem Resultat, daß für die Dotterbildung die aus dem Kern ausgetretenen Chromidien verantwortlich zu machen sind. Die Chromidien wandeln sich nach seiner Meinung (vgl. auch van Bambecke und van der Stricht) direkt in Dotter um. Es kann nicht meine Aufgabe sein zu untersuchen, inwieweit die von Moroff gegebenen Bilder, die den Chromatinaustritt zeigen sollen, beweisend sind. Wenn Moroff es aber unternimmt, seine an Copepoden gewonnenen Ergebnisse in der Weise zu verwerten, daß er auch in den Fällen, wo bei der Dotterbildung ein Chromatinaustritt nicht zu beobachten ist, Chromidienbildung annimmt, die nur färberisch nicht nachzuweisen ist — von Moroff in seiner neuesten Arbeit (1910b), in welcher er den gleichen Standpunkt vertritt, als »farblose Chromidien« bezeichnet — so muß dagegen aufs entschiedenste Verwahrung eingelegt werden, wie dies übrigens auch Jörgensen (1910) tut. Die ganze Lehre vom Chromidialapparat, der Metazoen — wie der Protozoenzelle, gründet sich eben gerade auf die färberische Nachweisbarkeit der Chromidien, mit ihr steht und fällt sie. Daß außerdem Stoffaustauschbeziehungen der verschiedensten Art zwischen Kern und Plasma bestehen, deren Vor-

handensein wir nur erschließen, nicht aber morphologisch nachweisen können, ist selbstverständlich. Überdies hat Verworn (1891) bereits vor 20 Jahren darauf hingewiesen und mit einem Schema belegt, daß wir gewisse Stoffabgabe- und Aufnahmebeziehungen zwischen Kern und Plasma anzunehmen haben, was Moroff anscheinend nicht bekannt ist. Es ist bisher aber niemand eingefallen, auch in solchen Fällen von Chromidien zu sprechen. Die Vorstellung der »farblosen Chromidien« enthält eine contradictio in adjecto und ist daher abzulehnen.

Derselbe Autor (1910a) kommt auf Grund seiner Untersuchungen über die Entwicklung der Nesselzellen bei *Anemonia* zu der Auffassung, daß auch diese als Produkt der Chromidien zu betrachten sind. Da Moroff dieser Arbeit nur Textfiguren beigibt, die nach seinen Mitteilungen über Technik wohl nach E. H. oder Benda-Präparaten angefertigt sein dürften, die fatalen Eigenschaften der E. H.-Methode aber hinlänglich bekannt sind und die Bendasche Methode, wie bereits oben erwähnt, die heterogensten Zellbestandteile in gleicher Weise färbt (worauf ich noch zurückkomme), so muß man wohl diese Angaben über Chromatinaustritt mit größter Vorsicht beurteilen. Dazu kommt noch, daß die Untersuchungen von Meves, Duesberg, Benda und Hoven gezeigt haben, worauf schon mehrfach hingewiesen wurde, daß aller Art Fibrillen aus Chondriokonten hervorgehen, deren nucleäre Herkunft sie bekanntlich aufs entschiedenste in Abrede stellen. Es liegt also sehr nahe, für jene Nesselzellen eine ähnliche Genese anzunehmen, sodaß deren angeblich nucleäre Entstehung zum mindesten sehr fraglich erscheinen muß.

Auch Schaxel (1909a) kommt zunächst bei seinen Untersuchungen an Ascidieneiern zu dem Resultat, daß im Zusammenhang mit Dotterbildung und Eiwachstum eine rege Chromidienbildung stattfindet, er schließt das hauptsächlich auf Grund von mit E. H. gefärbten Präparaten. Ich muß auch hier wieder betonen, daß diese Methode einen Schluß darüber, ob es sich im speziellen Fall um einen Chromatinaustritt handelt, überhaupt nicht zuläßt. Besonders bedenklich aber erscheint mir der eine Punkt der Schaxelschen Auffassung bezüglich dessen, was man mit »Chromatin« bezeichnen soll. »Man kann, um unbefangen vorzugehen, nicht anders verfahren, als daß man alles das Chromatin nennt, wofür sich deutliche, besonders genetische Beziehungen zum Kern nachweisen lassen und was das charakteristisch tinktoriell-morphologische Verhalten zeigt.« Während man ersterem durchaus zustimmen muß, ist nachdrücklich darauf hinzuweisen, daß dieses tinktoriell-morphologische Verhalten keineswegs »charakteristisch« ist, wie wir noch sehen werden. Es bleiben daher nur die genetischen Beziehungen zum Kern, d. h. direkte

Beobachtungen von Chromatinaustritt im Verein — zum mindesten im Zweifelsfalle — mit unzweideutigen mikrochemischen Reaktionen, als Kriterium dessen, was man als Chromatin zu betrachten hat. In der Folge zeigt sich denn auch, daß Schaxel (1910a, b, c u. d) immer mehr dazu neigt, bei Beurteilung der Frage nach der Chromidienbildung die genetischen Beziehungen zum Kern zu vernachlässigen und dem angeblich »charakteristischen tinktoriell-morphologischen Verhalten« vollgültige Beweiskraft zuzumessen. Dementsprechend hält er die Farben seiner Abbildungen (1910 b u. d) nicht in denen der Präparate, sondern trägt »zum Zwecke übersichtlicheren Vergleichs«, das, was er für Chromatin hält, mit blau, Plasma mit rot usw. ein, so daß man selbst überhaupt nicht in der Lage ist, sich ein Bild von seinen häufig wohl mit E.H. gefärbten Präparaten zu machen. — Nun haben die Schaxelschen Beobachtungen über die Eibildung von *Pelagia noctiluca* bereits eine Nachuntersuchung zur Folge gehabt und zwar durch Buchner. Aus den mir freundlichst mitgeteilten mündlichen Angaben von Herrn Dr. Paul Buchner entnehme ich, daß Schaxel wichtige cytoplasmatische Strukturen gänzlich übersehen hat, so daß sich die Verhältnisse wesentlich anders gestalten. — Auf die neueste Untersuchung Schaxels (1910 d) gehe ich nicht weiter ein. Es gilt für sie das gleiche, wie für die Medusenarbeit, da sämtliche Figuren in gleicher Weise schematisiert sind wie in jener.

Schließlich muß hier noch der neuesten Untersuchung Goldschmidts (1910) gedacht werden, in der er zu dem Resultat kommt, daß auch die Tigroidsubstanz der Ganglienzellen auf Grund der Beobachtungen von Scott (1899) — die er im gleichen Sinne bereits früher (1909/1910) verwertet — »sich ohne weiteres dem Begriff des Chromidialapparats einordnet«.

Nun waren die Untersuchungen von Scott für mich schon deswegen von Interesse, weil er bereits vor 12 Jahren die Hilfsmittel der Mikrochemie zur Entscheidung der Frage, ob die Nissl-Schollen als Chromatinderivat aufzufassen sind, heranzog. Er ist dabei auf Grund mikrochemischer Reaktionen sowie entwicklungsgeschichtlich-morphologischer Beobachtungen zur Bejahung dieser Frage gekommen. Was nun die mikrochemischen Reaktionen anlangt, so war für Scott der Hauptgrund für die Annahme der nucleären Natur des Tigroids seine Unverdaulichkeit in Pepsin-Salzsäure. Wir haben aber oben gesehen, daß auch bei *Ascaris* die Unlöslichkeit der metachromatischen Stränge in Pepsin-Salzsäure allein noch keinen sicheren Schluß über ihre Natur zuließ. Erst die kombinierte Pepsin-Trypsinverdauung führte zu brauchbaren differential-diagnostischen Ergebnissen. Mir scheinen demnach die Scottschen Resultate in dieser Richtung wenigstens nicht einwandfrei.

Auf die neuesten Untersuchungen von Popoff (1910) und Isakowitsch (1910) gehe ich nicht weiter ein. Ich kann sie unmöglich als beweiskräftig für die Chromidienlehre betrachten, da alle diese Untersuchungen mit der Existenz eines »specifischen Chromatinfarbstoffs« stehen und fallen.

Die Anhänger der Chromidienlehre sind geneigt, das, was sich mit den sogenannten Chromatinfarbstoffen auch außerhalb des Kernes färbt, für Chromatin zu halten. Dazu muß bemerkt werden, daß der Begriff des specifischen Chromatinfarbstoffs überhaupt fallen muß, will man ihn nicht nur auf Kernbestandteile anwenden. Es färben sich im Plasma eine ganze Reihe von Bestandteilen mit sogenannten Kernfarbstoffen — selbst wenn wir von der ganz unzuverlässigen Eisenhämatoxylinmethode absehen —, die nichts mit Chromatin zu tun haben. So z. B. bei *Ascaris*, wie schon erwähnt, mit dem angeblich sicheren Reagens auf Chromatin, nämlich 1. Methylengrün-Essigsäure nach Carnoy am lebenden Tier: nur die innere cuticulare Auskleidung des Oesophagus. 2. Mit Mallory und Magenta-Pikroindigcarmin in ganz gleichem Ton: Kernchromatin, metachromatische Stränge, gefensterte Membran, Stützschläuche der Kantenzellen und Stützfibrillen des Oesophagus, die Fibrillen der Subcuticula, Seitenlinien und Muskelzellen, Schlußleisten der Darmepithelzellen sowie eine Reihe mehr accessorischer Zellbestandteile. — Daß auch Delafield ganz heterogene Zellbestandteile ähnlich färbt wie Chromatin, wurde schon mehrfach betont. — Wie mir ferner Herr Dr. Jörgensen mitteilte, fand er gelegentlich demnächst zu veröffentlichender Untersuchungen, daß auch Saffranin und Boraxcarmin, die vielleicht am meisten geschätzten Kernfarbstoffe, gewisse Zellbestandteile intensiv färben, die nachweislich nicht aus Chromatin bestehen; für Saffranin mußte ich die gleiche Erfahrung machen. Es färbt z. B. nach Fixation mit der von mir benutzten Modifikation der Flemmingschen Lösung unter Umständen Glykogen! — Nach all dem muß in Zukunft der Begriff des Chromatinfarbstoffs — will man ihn überhaupt aufrecht erhalten — für den Kern selbst und seine Bestandteile reserviert bleiben.

So bleiben für uns nur einige Fälle, wo direkte Beobachtung es wahrscheinlich gemacht hat, daß es hier zu einer echten Chromidienbildung kommt. Es sind das die bei der Reifung der Geschlechtszellen beobachteten Erscheinungen, Popoff (1907) bei der Eibildung von *Paludina*, Wassilieff (1907) bei der Spermatogenese von *Blatta*, Buchner (1909) bei Ovo- und Spermatogenese der Orthopteren — auch die Angaben Moroffs (1908) und Schaxels (1909) würden, falls zutreffend, hier zu nennen sein — und schließlich, wie man mit Goldschmidt (1909/1910)

wohl sagen muß, »das glänzendste Beispiel« in den Ovocyten von *Proteus* durch Jörgensen (1910). Nun darf freilich nicht verschwiegen werden, daß die Angaben Wassilieffs und Buchners neuerdings durch Duesberg (1910c) eine scharfe Kritik erfahren haben. Aber das von Jörgensen (1910) gegebene Beispiel — das zwar von Meves (1910a) durchaus mit Unrecht ebenfalls »für irrtümlich bzw. schematisiert« gehalten wird — ist besonders bei Durchsicht der Originalpräparate, die den gleichen Vorgang hundertfältig wiederholt zeigen, so klar, daß an seiner Richtigkeit nicht gezweifelt werden kann. Ist aber hier der Chromatinaustritt bewiesen, so bedeutet das natürlich eine gewichtige Stütze für die prinzipiell gleichen, nur nicht so klaren Bilder von Wassilieff, Buchner usw.

ee) Derzeitiger Stand der Lehre vom Chromidialapparat der Metazoenzelle.

Wenn wir von dem so gewonnenen Standpunkt die Lehre vom Chromidialapparat überblicken, so wollen wir zunächst dabei dem Beispiel Goldschmidts folgen und die Theorie vom Kerndualismus ganz aus dem Spiel lassen, da die Verhältnisse bei *Ascaris* für sie keine Stütze mehr zu bilden vermögen. Überdies sind von andrer Seite (Dobell 1909), besonders aber von R. Hertwig (1907) so gewichtige Bedenken gegen jene Theorie geäußert worden, daß es in der Tat besser sein dürfte, von ihr zu abstrahieren. Die Gültigkeit der Lehre vom Chromidialapparat der Metazoenzelle kann meines Erachtens in ihrer Allgemeinheit nicht aufrechterhalten werden. Es ergibt sich die dringende Notwendigkeit von Fall zu Fall zu prüfen, ob Chromidienbildung stattfindet oder nicht. So verlockend auch gerade hier die zu Verallgemeinerung führende synoptische Betrachtungsweise sein mag, so muß doch aufs eindringlichste vor solcher gewarnt werden, zu welcher Auffassung auch neuerdings Lundegård (1910) kommt. Es kann dem richtigen Kern der Chromidienlehre nur schaden, wenn versucht wird, sie zu einem allgemein gültigen Prinzip zu erheben. Ich kann mich daher unmöglich der Ansicht Goldschmidts (1909/1910) anschließen, daß »also jede Herstellung von specifischen Zellprodukten . . . in dieser oder jener Weise auf Chromidienbildung zurückzuführen ist«, ebensowenig kann ich Goldschmidts Auffassung teilen, daß »niemals negative Befunde positive widerlegen können . . . Der Austritt der Chromidien ist jedenfalls ein osmotischer Vorgang und es ist deshalb sicher nicht leicht, ihn in jedem Fall sichtbar zu machen«. Diese Ansicht — deren Richtigkeit wir gleich noch zu prüfen haben werden — scheint mir aber im Verein mit der im vorigen

Satz ausgesprochenen für die ganze Frage äußerst gefährlich. Ich glaube, daß gerade wegen der Unsicherheit bei der Beobachtung von Chromatinaustritt einwandsfreie negative Befunde weitgehende Berücksichtigung finden müssen. Die Goldschmidtschen Anschauungen führen sonst letzten Endes zu den »farblosen Chromidien« Moroffs und was von diesen zu halten ist, wurde oben auseinandergesetzt.

ff) Mechanismus der Chromidienbildung.

Wie ist aber überhaupt eine Chromidienbildung zu denken, wie haben wir uns den Vorgang des Chromatinaustritts vorzustellen? — Goldschmidts Anschauungen hierüber wurden soeben erwähnt. Ich habe über den Mechanismus dieses Prozesses etwas andre Vorstellungen, die an dieser Stelle auseinandergesetzt sein mögen.

Wenn man sich die Kernmembran von ähnlicher Beschaffenheit denkt wie die Plasmahaut Overtons, so kann eine Chromidienbildung offenbar nur so zustande kommen, daß die aus dem Kern austretende Substanz, die man sich in fortwährend weitersehreitendem Abbau begriffen vorstellen muß, zunächst ein Stadium erreicht, auf dem sie in der Kernmembran löslich ist, ebenso wie die Kernmembran in ihr. Auf diese Weise könnten also auch partielle Lösungen der Kernmembran erfolgen, die aber dann durch die durchtretende Substanz nicht beobachtet werden können, wie z. B. bei Jörgensen (1910). Bei weiter fortschreitendem Abbau wird ein Stadium erreicht, auf dem die Substanz nunmehr wieder unlöslich in der Kernmembran wird. Sie tritt ins Plasma und stellt nun, wie gesagt, nicht mehr Chromatin, sondern bereits ein Abbauprodukt desselben vor. Ich kann mich der Vorstellung Goldschmidts, daß die Chromatinabgabe durch Osmose erfolgt, demnach nicht anschließen, denn erstens kann das Chromatin als Eiweißverbindung und somit kolloidale Substanz nicht durch Membranen diffundieren, und zweitens wäre nicht zu verstehen, warum, falls durch die Kernmembran Chromatin diffundieren kann, sich jemals ein chromatinreicher Kern in einem chromatinarmen oder gar -freien Plasma finden könnte. Nach den Gesetzen der Osmose müßte sich zwischen Chromatin des Kernes und Plasmas stets ein Gleichgewichtszustand herstellen, und so könnten solche Verhältnisse überhaupt nicht entstehen.

Wenn für Chromidienbildung Bilder gegeben werden, bei denen die Kernmembran zerrissen oder weit geöffnet ist (Erhard 1910), so können solche Verhältnisse nur als pathologisch oder als Kunstprodukte aufgefaßt werden.

gg) Chromatinsynthese und Chromidien.

Doch ein wichtiger Punkt bleibt bei Erörterung der Chromidienlehre noch zu besprechen, den, wie ich sehe, Schaxel (1909) nur gestreift hat, um aber eine in jene Richtung gehende Möglichkeit sofort zu verwerfen. Könnte nicht wenigstens ein Teil der als Chromatinaustritt aufgefaßten Bilder so gedeutet werden, daß es sich dabei gar nicht um Chromatinaustritt, sondern umgekehrt um einen Chromatineintritt handelt? Schaxel lehnt eine solche Möglichkeit deswegen ab, weil er den Nachweis erbracht zu haben glaubt, daß die »Chromasie des Plasmas allmählich entsteht bei steter Emission von Chromatin aus dem Kern«. Selbst aber, wenn das wirklich der Fall sein sollte, wäre es ja noch kein Beweis dafür, daß nicht der umgekehrte Prozeß ebenfalls besteht, da die Schaxelschen Untersuchungen durchaus nicht beweisen, daß die bei »Chromasie des Plasmas dann gleichzeitig zu postulierende »Achromasie« des Kernes wirklich besteht. Nun glaube ich es für die *Ascaris*-Muskelzellen sehr wahrscheinlich gemacht zu haben, daß solche Chromatin- bzw. Prochromatinsynthesen im Plasma tatsächlich stattfinden und daß diese im Zusammenhang stehen mit dem durch das Wachstum der ganzen Zelle bedingten Wachstum des Kernes. Dazu kommt aber, daß, wie von Loeb und R. Hertwig verschiedentlich betont wurde, gerade beim Ei, das ja zu einem Riesenwachstum bestimmt ist und somit ähnliche Verhältnisse wie die Riesenzelle von *Ascaris* zeigen dürfte, während des Eiwachstums und der Furchung eine ständige Neubildung von Chromatin, eine Nucleinsynthese vom Plasma aus erfolgen muß. Auch für Macallum (1908) ist es eine feststehende Tatsache, daß die Chromatinneubildung im Plasma erfolgt (vgl. ferner Masing [1910]). — Es ist also bereits a priori im hohen Maß wahrscheinlich, daß speziell bei der wachsenden Eizelle sich ähnlich verlaufende, morphologisch sichtbar zu machende Prochromatinsynthesen finden wie bei *Ascaris*. Wenn man bedenkt, bis zu welcher Größe das Ei und um die reguläre Kernplasmarelation einzuhalten, dementsprechend auch der Kern wachsen muß, so liegt zum mindesten der Gedanke sehr nahe, daß die Chromatinsynthesen im Ei sich auch morphologisch verfolgen lassen können. Solche Bilder, wie sie gerade Moroff und Schaxel für Chromatinaustritt gegeben haben, scheinen aber — falls sie zu Recht bestehen — obiger Auffassung besonders günstig. Es liegt eigentlich auch nichts näher als anzunehmen, daß der wachsende Eikern Chromatin oder besser Prochromatin von außen aufnimmt, anstatt solches abzugeben!

Aber auch von andrer Seite mehren sich die Angaben über Beobachtung von Chromatin- bzw. Prochromatinsynthesen im Plasma. Ich

führe hier nur die interessanten Beobachtungen von Reichenow (1909) über Hämatococcus an, ein Flagellat, der zum Studium des sogenannten »Volutin« besonders günstige Verhältnisse bietet. Nach Reichenow versteht Arthur Meyer (1904) darunter einen Stoff, den er für eine Nucleinsäureverbindung hält. Dies Volutin stellt eine Art Reservesubstanz für den Kern dar. Charakteristisch für es ist u. a. seine starke Affinität zu Chromatinfarbstoffen. Es färbt sich intensiv mit den gewöhnlich als specifischen Kernfarbstoffen bezeichneten Färbungen, wie z. B. Boraxcarmin, Delafield usw. meist sogar stärker als der Kern. Ein Entstehen der Volutinkörner aus dem Kern konnte Reichenow niemals beobachten, hält vielmehr ihre plasmatische Herkunft für ziemlich sicher. Reichenow konnte ferner den Nachweis führen, daß die sich durch ihren Phosphorsäuregehalt auszeichnenden Volutinkörner in phosphorsäurehaltigen Nährlösungen besonders stark anwachsen, um bei Erschöpfung der Nährlösungen allmählich zu verschwinden und zwar in der Weise, daß die nach dem Kern zu gelegenen Teile besonders rasch aufgebraucht werden. Dazu kommt noch, daß kurz vor der Teilung die Volutinkörner in großer Menge verbraucht werden. Die Untersuchungen Reichenows scheinen daher mit ziemlicher Sicherheit zu ergeben, daß die Volutinkörner die Funktion einer Kernreservesubstanz für die Zelle haben. Sie werden demgemäß durchaus den Substanzen in der *Ascaris*-Muskelzelle entsprechen, die ich nach meiner Auffassung zweckmäßiger als Prochromatin bezeichnet habe. — Auch v. Prowazek (1908) kommt zu der Überzeugung, daß sich innerhalb der Zellen derartige Prochromatine finden müssen. Er glaubt, daß es das Lecithin sei, was »den Nucleinen des Kernes die Phosphorsäure zuführt«. Ja er gibt sogar an, »daß das Lecithin sich Farbstoffen (Hämatoxylin, Saffranin, Azur-Eosin, Cochenillealaun) gegenüber wie eine Kernsubstanz verhält!« Giemsa fand nämlich, daß die Metaphosphorsäure die Färbbarkeit durch Chromatinfarbstoffe bedingt, diese daher nach Prowazek auch dem Lecithin zukommen müsse. Sollten sich diese Angaben bestätigen, so fänden, wie mir scheint, mit einem Schlage die vielen Angaben über Chromidienbildung beim wachsenden Ei in der Richtung der hier entwickelten Anschauung eine Erklärung. Es darf aber nicht verschwiegen werden, daß Fauré-Frémiet (1901b), der die Arbeit Prowazeks anscheinend nicht kennt, auf Grund seiner Untersuchungen zu dem Resultat kommt, daß die Färbbarkeit des Lecithins mit Chromatinfarbstoffen ganz von der verwandten Fixierungsflüssigkeit abhängt, es sich z. B. nach Chromierung praktisch nur mit Orange G färbt, nach Behandlung mit Kupfer und Eisensalzen aber Hämatoxylin annimmt. Dagegen färbt sich das Lecithin

sowohl nach Behandlung mit Chrom- als auch Chromosmiumgemischen mit E. H. intensiv und was diese Tatsache, ihre Richtigkeit vorausgesetzt, für die hier vorgetragene Auffassung namentlich bezüglich reifender Eier betrifft, braucht nicht weiter auseinandergesetzt zu werden.

Ich halte damit den Beweis für erbracht, daß in einer ganzen Reihe von Fällen, die im Sinne der Chromidienlehre verwertet wurden, tatsächlich der umgekehrte Prozeß stattfindet, daß den morphologisch sichtbar zu machenden Chromatin- bzw. Prochromatinsynthesen innerhalb des Zellplasmas eine viel größere Bedeutung zukommt, als man bisher angenommen hat.

Es war bei der Untersuchung der Verhältnisse bei *Ascaris* natürlich auch daran zu denken, ob nicht den metachromatischen Strängen in den Oesophagusmuskelzellen eine ähnliche Bedeutung zukäme, wie jenen Phosphatidvacuolen in den Körpermuskelzellen. Eine solche Auffassung schien mir zunächst wenig wahrscheinlich zu sein. Nun kommt aber Fauré-Frémiet (1910a u. b) auf Grund seiner Untersuchungen über die Chemie der Mitochondrien zu der Anschauung, daß diese entweder eine Adsorptionsverbindung von Eiweiß und Fettsäure oder aber von Eiweiß und einem Lipoid bzw. Phosphatid darstellen. Ich erwähne das, weil es jedenfalls auffallen muß, daß gerade in jenen Muskelzellen, wo die Phosphatidvacuolen vorkommen, also in den Körpermuskelzellen der mittleren Körperregion, wie mehrfach erwähnt, metachromatische Stränge nur in ganz seltenen Fällen auftreten, wohl aber in denen, denen umgekehrt jene Phosphatidvacuolen fehlen, also Oesophagusmuskelzellen, Dilatatoren des Chylusdarms und Spicularmuskulatur. Diese Beziehung ist entschieden auffällig, so daß man eventuell an ein Vikariieren von Phosphatidvacuolen und metachromatischen Strängen, die ja rein morphologisch genommen, den Chondriokonten völlig gleichen, denken könnte.

hh) Mitochondrien Chondriosomen usw. und Chromidien

Im Anschluß an obige Betrachtungen müssen wir uns etwas eingehender mit der Mitochondrienforschung beschäftigen, die sich ja bekanntlich in ihrem wesentlichsten Punkt der Herkunft der Chondriokonten, Chondriosomen, Mitochondrien usw. in diametralem Gegensatz zur Chromidienlehre befindet. Ich darf die wichtigsten Resultate der Untersuchungen von Benda, Meves, Duesberg und Hoven als bekannt voraussetzen. Sie haben den Beweis erbracht, daß in der Tat eine Reihe von specifischen Zellstrukturen Produkte der Chondriokonten sind, so z. B. Stütz-, Muskel- und Neurofibrillen. Die Untersuchungen Bendas

(1902) und Koltzoffs (1906, 1908) haben ferner gezeigt, daß auch die eigentümlichen Skeletstrukturen der Spermien aus Chondriokonten hervorgehen. Daraus darf nun natürlich nicht der Schluß gezogen werden, daß überhaupt alle specifischen Zellstrukturen von Chondriokonten gebildet werden. — Zunächst aber bleibt die Frage zu entscheiden, ob wir es in den Chondriokonten mit Kernderivaten, selbst im weitesten Sinne des Wortes, zu tun haben oder nicht. Goldschmidt (1909/1910) faßt neuerdings den Begriff des Chromidialapparats sehr weit. »Die Allgemeingültigkeit der Chromidienlehre hängt daher zu recht großem Teil vom Nachweis ab, daß die Mitochondrien, Chondriokonten usw. aus Chromidien hervorgehen — wohl verstanden nicht Chromidien sind — somit zum Begriff des Chromidialapparats gehören. Ich erachte diesen Beweis für vollständig erbracht.« Wie bereits oben betont, kann ich diese Auffassung nicht teilen und es ist jedenfalls bemerkenswert, daß auch Buchner (1909) bezüglich der nucleären Natur der Mitochondrien der Spermatogonien von *Gryllotalpa*, von ihm als Chromidien gedeutet, zu dem Resultat kommt: »Der Nachweis, daß diese aus dem Kern stammen, läßt sich hier so wenig wie sonst in ähnlichen Fällen führen.«

Wenn nun auch sicherlich manches, was als Chromidien aufgefaßt wurde, mit den Chondriokonten usw. identisch, also plasmatischer Natur ist, so fragt sich doch, ob daneben nicht auch tatsächlich Chromidienbildung vorkommt. Solche Bilder, wie sie Wassilieff (1907) und besonders Jörgensen (1910) gegeben haben, sind trotz Meves und Duesberg so eindeutig, daß sich dagegen schlechterdings nichts einwenden läßt. Wenn man ferner bedenkt, daß der »Dotterkern« von *Proteus* nach den Angaben von Jörgensen aus vier verschiedenen Komponenten (Centrosom, Mitochondrien, ausgestoßenem Chromatin und Fett) besteht, so muß es als sehr wahrscheinlich gelten, daß die ganz ähnlichen Verhältnisse, die Wassilieff (1907), Popoff (1907), Buchner (1909), sowie Meves und Duesberg selbst an verschiedenen Objekten schildern, auch in ähnlicher Weise zu erklären sind. Ebenso unrichtig, wie mir die Verallgemeinerung der Chromidienlehre scheint, ist umgekehrt die Behauptung der Mitochondrienforscher, daß Chromidienbildung überhaupt nicht vorkommt. Nach allen bisherigen Erfahrungen scheint eine Chromatinabgabe von Ovocyten und Spermatocyten auf dem Bukettstadium sehr wahrscheinlich, ja für *Proteus* von Jörgensen (1910) bewiesen zu sein. — Bei der Entscheidung dieser Fragen ist es unumgänglich, mit den gleichen Methoden zu arbeiten bzw. bei Nachuntersuchungen neben der eignen und der stets anzuwendenden Bendaschen auch die Methoden der Voruntersucher zu benutzen, da sich sonst natürlich stets der Vor-

wurf mangelhafter Technik sowohl von der einen als der andern Seite machen läßt.

Eine Kritik der Mitochondrienlehre muß, wie mir scheinen will, an dem Punkt einsetzen, von dem die Mevessche Schule bei der Kritik der Untersuchungen der Chromidienforscher ausgeht, nämlich der Technik. Es kann keinem Zweifel unterliegen, daß hier auf beiden Seiten Fehler unterlaufen sind. Wenn aber gerade in allerneuester Zeit seitens des Münchener Instituts die Specifizität der sogenannten Chromatinfarbstoffe bei Verwertung etwaiger Chromidienbefunde einer strengen Prüfung unterzogen wird, schlagen anscheinend die Mitochondrienforscher gerade den umgekehrten Weg ein. Den Fehler, den sie den Anhängern der Chromidienlehre vorgeworfen haben, machen sie nun selbst, indem sie alles, was sich nach der Bendaschen Methode blauviolett färbt, mit Mitochondrien, Chondriosomen, Chondriokonten usw. bezeichnen. Eine Ausnahme hiervon scheint wenigstens theoretisch — praktisch ist nicht viel davon zu merken — Duesberg zu machen. Duesberg (1907/1908) schreibt: »Doch möchte ich auf die Frage, ob diese Methode (Benda, Ref.) eine specifische sei, nicht bejahend antworten . . . Sich auf die Färbbarkeit durch basische Teerfarben nach Bendascher Behandlung zu stützen, um die mitochondriale Natur irgendwelcher Gebilde zu beweisen, wäre nach meiner Meinung unvorsichtig.« Und ferner derselbe Autor (1910b): «pour lui (gemeint ist der Umstand der Violettfärbung der Mitochondrien, Ref.) attribuer une signification absolue, il faut admettre la spécificité de la méthode. Cette spécificité n'est évidemment pas établie.» Theoretisch also ist doch wenigstens Duesberg vorsichtig in bezug auf die Verwertung der nach Bendascher Methode gewonnenen Resultate. Meves und Benda zeigen diese Vorsicht nicht. Aus dem von letzterem Autor stammenden Abschnitt über »Mitochondria« in der Encyklopädie der mikroskopischen Technik (1910) geht unzweifelhaft hervor, daß er seine Methode für specifisch hält. Für Meves gilt anscheinend das gleiche und Holmgren (1908) versteigt sich bereits zu der Behauptung, daß »bei der Bendaschen Methode jede physikalische Bedingung der Färbbarkeit ausgeschlossen ist«. Diese halten also offenbar alles, was nach Benda blauviolett gefärbt wird, für Chondriosomen usw., bzw. als aus solchen hervorgegangen. Dazu ist zu bemerken, daß die Theorie des Färbeprozesses nach Michaelis (1910) auch heute noch nicht klar ist und daß ferner bei Beizfärbungen, wie der Bendaschen, gerade physikalische Bedingungen eine hervorragende Rolle spielen. — Was die Verhältnisse bei *Ascaris* anlangt, so färben sich mit der Bendaschen Methode folgende Zellbestandteile in völlig gleichen blauvioletten

Ton: Ein Teil des Kernchromatins, die metachromatischen Stränge, Stützfibrillen, gefensterte Membran, Stützschläuche, sowie innere und äußere cuticulare Auskleidung des Oesophagus, ferner Stützfibrillen der Körpermuskelzellen, der Subcuticula, der Seiten-, Rücken- und Bauchlinie und Darmzellen, die kontraktilen Leisten der Körpermuskelzellen, sowie mancherlei Granulationen und accessorische Zellbestandteile. So ist es um die Specifizität der Bendaschen Methode bei *Ascaris* bestellt!

Nun könnte man vielleicht versucht sein zu glauben, daß Stützfibrillen usw. sich eben deswegen mit der Bendaschen Methode färben, weil sie aus Chondriosomen hervorgegangen sind. Dazu ist zunächst zu bemerken, daß ein solcher Beweis für *Ascaris* fehlt und wohl auch schwerlich erbracht werden wird. Daß aber die riesigen Stützschläuche der Oesophaguskantenzellen oder gar äußere und innere cuticulare Auskleidung des Oesophagus aus Chondriosomen hervorgehen könnten, wird doch wohl niemand behaupten wollen. Alle diese Tatsachen mahnen zur größten Vorsicht gegenüber Verwertung der durch die Bendasche Methode gewonnenen Bilder. Besonders aber angesichts des Versuchs von Meves (1908), die Chondriosomen als Träger erblicher Anlagen aufzufassen, der sich ja auf die Specifizität der Bendaschen Methode gründet, muß mit allem Nachdruck darauf hingewiesen werden, daß diese angebliche Specifizität nicht existiert. Ich sehe dabei ganz davon ab, daß die wenigen Beobachtungen, die über die angebliche Kontinuität der Chondriosomen in den Geschlechts- und Embryonalzellen von Meves (1908) und Duesberg (1910a) mitgeteilt sind, zu einer auch nur halbwegs sicheren Begründung solcher Vorstellungen denn doch nicht ausreichen, ganz zu schweigen von den vielen Hilfsannahmen, zu denen Meves sich naturgemäß gezwungen sieht (Reduktion der Chondriosomen, Konjugation bei der Befruchtung usw.) und für die keinerlei positive Beobachtungen vorliegen. Ich vermag daher die optimistische Anschauung Duesbergs (1910a u. b) über den vermeintlichen Nachweis der Kontinuität der Chondriosomen nicht zu teilen und muß mich der scharfen Kritik, die neuerdings Lundegård (1910) an den Meves-Duesbergschen Vorstellungen geübt hat, durchaus anschließen.

ii) Apparato reticolare, Trophospongien und Chromidien.

Goldschmidt (1905) hatte auf Grund seiner Befunde an *Ascaris* die Ansicht ausgesprochen, daß auch die Trophospongien Holmgrens und der Apparato reticolare Golgis mit unter den Begriff des Chromidialapparats zu rechnen seien. Diese Homologisierung ist nach den vorliegenden Untersuchungen nicht mehr aufrechtzuerhalten. Aber auch

die Chondriosomenforscher, die zunächst geneigt waren, jene Zellstrukturen nun als Choudriokonten usw. für sich in Anspruch zu nehmen, haben diesen Standpunkt verlassen. Meves (1910a) ist z. B. der Meinung, daß jener »Netzapparat« »neben den Chondriokonten vorhanden sein und eine von ihnen verschiedene Bildung repräsentieren muß«. Das scheint mir vollkommen zuzutreffen. Ich habe den Eindruck, daß es sich bei den »Netzapparaten« zum Teil um Stützstrukturen, zum Teil um lipoide Substanzen handelt, die weder mit Chondriokonten noch mit »Trophospongien«, wie das Holmgren meint, etwas zu tun haben.

Was nun diese Holmgrenschen Trophospongien angeht, so bin ich der Überzeugung, daß, wie auch Goldschmidt (1905) zutreffend bemerkt, »hier ganz heterogene Dinge zusammengeworfen werden«. — Bei der Betrachtung der Holmgrenschen Befunde und Folgerungen wollen wir von seinen Beobachtungen an Insektenmuskeln ausgehen. Holmgren (1907) hat hier feststellen können, daß die Tracheen nach Durchdringen des Sarcolemm sich in äußerst feiner Weise innerhalb der Muskelfaser verzweigen. Es liegt aber nicht der geringste Grund vor, diese feinsten Tracheennetze als Trophospongien aufzufassen. Es ist klar, daß bei den hoch entwickelten Insekten eine gute Sauerstoffversorgung der Muskulatur unerläßlich ist. Da sich bei Insekten kein geschlossenes Blutgefäßsystem findet, muß die Sauerstoffversorgung in andrer, zwar viel direkterer, aber dadurch eben die komplizierten feinen Tracheenkapillaren innerhalb der Muskulatur bedingender Weise erfolgen. Es ist daher selbstverständlich, daß solche feinen Tracheennetze eine Spezialität der Insekten darstellen und in keiner Weise eine Analogie etwa bei den Wirbeltieren in Gestalt von »Trophospongien« haben müssen, da hier die Sauerstoffzufuhr in andrer Weise realisiert ist. So hat denn auch Arnold (1909a, b, c) bei seinen Muskeluntersuchungen nichts von Trophospongien finden können. Lassen sich also die Tracheenkapillarnetze der Insektenmuskulatur nicht im Sinne der Trophospongienlehre verwenden, so muß ferner darauf hingewiesen werden, daß offenbar in manchen Fällen auch da Trophospongien beschrieben wurden, wo es sich um Stützstrukturen handelt. Das gilt anscheinend z. B. für manche Bilder der Insektenmuskel-Trophospongien, ferner für mancherlei Epithel- und Nierenzellen.

Ein Fall von Beobachtung von Trophospongien muß hier noch besonders besprochen werden, weil er deutlich zeigt, wie ein Teil der Trophospongienbefunde eine einfache Erklärung finden dürfte, und weil er anderseits im Sinne der Chromidienlehre ausgelegt wurde. Es handelt sich dabei um die Trophospongien der Lebergangzellen von *Helix pomatia*. Holmgren (1903a u. b) beschrieb in diesen Trophospongien. Erhard

(1910) untersuchte das gleiche Objekt und kam zu ähnlichen Bildern wie Holmgren, glaubt aber, daß die Trophospongien Holmgrens aus dem Kern entstehen, und daher unter den Begriff der Chromidien fallen. Zu diesen Trophospongien ist zunächst zu bemerken, daß Holmgren für sie ebenso wie für andre angibt, daß sie sich »verflüssigen« und unter gewissen Bedingungen ganz verschwinden können. Erhard fand ebenfalls, daß Hungern die Trophospongien zum Schwinden bringt, während sie nach reichlicher Fütterung wieder mächtig auftreten. — Nun hat Barfurth (1885) in seiner eingehenden Untersuchung speziell über die Morphologie des Stoffwechsels bei *Helix*, die anscheinend Holmgren und Erhard nicht kennen, festgestellt, daß genau an den Stellen, an denen nach Holmgren und Erhard die Trophospongien bzw. Chromidien liegen, Glykogen abgelagert ist (Barfurths Fig. 16). Das Glykogen schwindet beim Hunger, um bei Fütterung wieder aufzutreten! Die Analogie mit den sich verflüssigenden und verschwindenden Trophospongien-Chromidien und ihrem Wiederauftreten nach Fütterung ist ins Auge springend. — Nun könnte dagegen noch eingewandt werden, daß die von Holmgren und Erhard angewandte Fixierung und Färbung das Glykogen nicht darstellt. Dazu ist zu bemerken, daß die von Holmgren und Erhard meist benutzte Trichlormilchsäure nach den Untersuchungen von Saake (1893) bei Temperatur unter 100° das Glykogen nicht beeinflußt. Daß aber auch andre Fixationsmittel das Glykogen ganz oder teilweise erhalten können, ist bekannt, ebenso, daß eine ganze Reihe von Farbstoffen mehr oder weniger starke Färbungen des Glykogens bewirken. So ist z. B. nach P. Mayer (1909) gerade das von Holmgren so viel benutzte Weigertsche Resorcin-Fuchsin von Vastarini für eine neue Glykogenfärbung benutzt worden!

Es kann daher, wie mir scheint, keinem Zweifel unterliegen, daß die Holmgren-Erhardschen Befunde weder mit Trophospongien noch Chromidien etwas zu tun haben, sondern daß beiden entweder Glykogen selbst oder aber ein in inniger Beziehung zu diesen stehender Körper vorgelegen hat. Überhaupt müssen, wie mir scheint, eine ganze Reihe der Holmgrenschen Befunde in ähnlicher Weise gedeutet werden. Gerade die von Holmgren in Nieren- und Leberzellen gefundenen Trophospongien finden in dem durch wechselnden Ernährungszustand bedingten verschiedenen Glykogengehalt der Zelle eine Erklärung, wozu noch die in verschiedenem Maße vorhandene Lösungsfähigkeit der Fixiermittel dem Glykogen gegenüber kommt. Auf diese Weise können natürlich alle Arten von Übergänge von kompakten Trophospongien bis zu leeren »Saftkanälchen« zustande kommen und es ist kaum verständlich, daß Holmgren, der selbst

an der Leber des Igels durch reichliche Fütterung und umgekehrt Hungern zu Bildern gelangte, die auf mehr oder minder starken Glykogengehalt und dadurch bedingte vacuolen- und kanalartige Lücken innerhalb der Zellen zurückzuführen sind, nicht die Konsequenz zieht, die sich für seine Lehre daraus ergibt. Ich glaube, daß die nicht als Stützstrukturen aufzufassenden Bilder von Trophospongien so zu erklären sind, daß eine innerhalb der Zellen liegende, leicht lösliche Reservesubstanz (häufig Glykogen), sei es durch bereits im Leben vorhandene wechselnde Menge, sei es durch infolge der Fixierung erfolgten teilweisen Lösung, die »Trophospongien-Saftkanälchen« erzeugt. Daß solche Bilder bei Glykogen führenden Zellen tatsächlich vorkommen, habe ich unzählige Male an *Ascaris* beobachten können. —

Wir sind am Ende unsrer Betrachtungen angelangt. — Wenn auf den vorliegenden Blättern der Versuch gemacht wurde, auf die Fragen der Zellforschung mehr als das sonst zu geschehen pflegt, die physiologisch-chemische und physikalisch-chemische Betrachtungsweise anzuwenden, so bin ich mir der Schwierigkeiten und der damit zusamenhängenden, Mangelhaftigkeit dieses Versuchs durchaus bewußt. Es kann aber meines Erachtens keinem Zweifel unterliegen, daß die moderne Zellforschung, die ja nicht mehr die Morphologie, sondern die Physiologie der Zelle zu ergründen sucht, mit der Richtungsänderung auch eine Änderung ihrer Methoden und Betrachtungsweise erfahren muß. Man wird gewiß nicht glauben wollen, daß die »Grenzen der Erkenntnis« im Zellgeschehen schon erreicht sind. Was noch zu ergründen bleibt — und das sind erst die Rätsel des Lebens — liegt auf dem Gebiete der physiologischen und physikalischen Chemie und so muß es als selbstverständlich erscheinen, daß auch die Betrachtungsweisen dieser Forschungszweige auf die Zellprobleme angewandt werden müssen, soll das Ziel, die Ergründung des Zellebens, wirklich erreicht werden. — Zum Schluß habe ich noch eine Pflicht der Dankbarkeit gegenüber allen denen zu erfüllen, die mir bei meinen Untersuchungen Interesse und Hilfe geleistet haben. Zunächst Herrn Geheimrat Hertwig, in dessen Institut vorliegende Untersuchung ausgeführt wurde. Ferner Herrn Professor Goldschmidt, welch letzterem ich die Anregung zu einem Teil der vorliegenden Untersuchungen verdanke. — Ferner bin ich zu Dank verpflichtet Herrn Professor Alzheimer, der mir sein mikrophotographisches Laboratorium zur Verfügung stellte, ganz besonders aber Herrn Professor Weinland, dessen reichen Anregungen und freundlicher Unterstützung in manchen physiologischen Fragen ich ebensoviel verdanke, wie seiner skeptischen Kritik in der Beurteilung zweifelhafter Fälle.

C. Schluß und Nachtrag.

Einige Zeit nach Niederschrift des Vorstehenden erschien eine Arbeit von Meves (1911), die ausführliche Mitteilung über die »Aussaat« männlicher Mitochondrien bei der Befruchtung des Eies von *Ascaris megalocephala*. Es darf nach der in chronischer Metamorphose befindlichen Terminologie der Mitochondrienforscher schon nicht mehr wundernehmen, wenn die neue Arbeit die Mitochondriennomenklatur um einige neue Termini bereichert. Meves wird in Zukunft ausschließlich von Plastosomen, Plastokonten und Plastochondrien sprechen. — Er glaubt, daß das *Ascaris*-Spermium in das Ei Plastochondrien einführt, die sich mit denen des Eies mischen und mit ihnen verschmelzen. Ich habe weiter oben die Vermutung ausgesprochen, daß es sich bei diesen »Plastochondrien« um Produkte des Glanzkörperzerfalls handelt. Für einen Teil der »männlichen Plastochondrien« trifft das wohl nicht zu, da sie bereits bei noch intaktem Glanzkörper darzustellen, also vermutlich mit dem »Mitochondrienkörper« Mayers (1908) identisch sind. Ein andrer Teil aber dürfte sich dennoch vom Glanzkörper ableiten, da, wie Meves selbst angibt, bei der von ihm angewandten Altmannschen Methode der Glanzkörper sich »ebenso wie die Plastochondrien intensiv rot aber vielfach in einer etwas andern Nuance (mehr zinnoberrot, während die Plastochondrien Carminton zeigen)« tingiert. Wer will also da entscheiden, was Plastochondrien und was Glanzkörperzerfallsprodukte sind? Übrigens sind derartige Plastochondrien, wie sie Meves im Reifei beschreibt, schon von Goldschmidt (1905) in den Ovogonien gefunden und von ihm, wohl mit Unrecht als Chromidien aufgefaßt worden. Man kann sie hier mit der Bendaschen Methode leicht darstellen.

Die Mevessche Arbeit zeigt deutlich, wie berechtigt die Warnungen vor Verallgemeinerungen in diesen Fragen sind. Was sich nach Benda oder Altmann darstellen läßt, wird mit »Plastochondrien« usw. bezeichnet. Was haben aber solche Plastochondrien in den Markbeuteln der Muskelzellen verloren, wo man sie mittels Benda aufs deutlichste nachweisen kann? Knüpft man, wie das Meves tut — und das ist eben das Bedenkliche — vererbungstheoretische Spekulationen an das Auftreten der Plastochondrien, so möchte man zu Duesbergs (1910) Betrachtungen eine Variante wählen und sagen: «c'est la ruine définitive de la théorie de» — Meves, denn wo sind dann jene Bildungen Vererbungsträger und wo nicht? Die Bendasche oder Altmannsche Methode sagt darüber nichts aus, es bleibt also dem Belieben des Beobachters überlassen, sie einmal als »Vererbungsträger«, ein andres Mal als Granula

unbekannter Bedeutung, die bei *Ascaris* vielleicht gar im Zusammenhang mit dem Glykogenstoffwechsel stehen, aufzufassen. — Was die Mitochondrienforschung an positiven Ergebnissen geliefert hat, verdient gewiß größte Anerkennung, die Richtung unkontrollierbarer Spekulationen aber, in der sie sich zurzeit bewegt, muß, wie mir scheinen will, den Fortschritt in der Erkenntnis eher hemmen als fördern.

Literaturverzeichnis.

Abderhalden, E. 1909. Lehrbuch der physiologischen Chemie. Berlin.

Altmann. 1894. Die Elementar-Organismen. Leipzig.

Apathy, St. 1893. Über die Muskelfasern von Ascaris usw. Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie. Bd. X.

Arnold, J. 1900. Über vitale Granulafärbung in den Knorpelzellen, Muskelfasern und Ganglienzellen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LV.

Arnold, J. 1908. Zur Morphologie des Knorpelglykogens usw. Virchows Arch. Bd. CXCIV.

—— 1909a. Zur Morphologie des Muskelglykogens und zur Struktur der quergestreiften Muskelfaser. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXIII.

—— 1909b. Zur Morphologie des Glykogens des Herzmuskels nebst Bemerkungen über dessen Struktur. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXIII.

—— 1909c. Über feinere Strukturen und die Anordnung des Glykogens in den Muskelfaserarten des Warmblüterherzens. Sitzungsberichte der Heidelberger Akad. d. Wiss. Jahrg. 1909.

—— 1910a. Enthalten die Zellen des Knochenmarks, die eosinophilen insbesondere, Glykogen? Centralbl. f. allgem. Pathol. u. patholog. Anat. Bd. XXI.

—— 1910b. Über Nierenstruktur und Nierenglykogen. Sitzungsber. d. Heidelberger Akad. d. Wiss. Jahrg. 1910.

Babes, V. 1895. Beobachtungen über die metachromatischen Körperchen usw. Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XX.

Barfurth, D. 1885. Vergleichend-histochemische Studien über das Glykogen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XXV.

Benda. 1902. Die Mitochondria. Ergebnisse der Anatomie u. Entwicklungsgesch. Bd. XII.

van Beneden, E. 1883. Recherches sur la maturation de l'œuf, la fécondation et la division cellulaire. Paris.

van Beneden et Julin, Ch. 1884. La spermatogénèse chez l'Ascaris mégalocéphale. Bull. acad. Belgique (3). Vol. VII.

Best. 1906. Über Karminfärbung des Glykogens und der Kerne. Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie. Bd. XXIII.

Bilek, Fr. 1909. Über die fibrillären Strukturen in den Muskel- und Darmzellen der Ascariden. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XCIII.

—— 1910a. Noch ein Wort über die fibrillären Strukturen in den Darmzellen der Ascariden. Anat. Anz. Bd. XXXVI.

—— 1910b. Die Muskelzellen der großen Ascarisarten. Anat. Anz. Bd. XXXVII.

Bleibetreu, M. 1909. Zur mikrochemischen Jodreaktion auf Glykogen. Pflügers Arch. Bd. CXXVII.

van Bömmel. 1895. Über die Cuticularbildungen bei einigen Nematoden. Arb. d. zool. Inst. Würzburg. Bd. X.

Boveri, Th. 1887—1888. Zellenstudien, 1—2. Jena.

Brault, A. und Loeper, M. 1904. Le Glykogène dans le développement de certains parasites (Cestodes et Nematodes). Journal de Physiologie et de Pathologie générale. Vol. VI.

Buchner, P. 1909. Das accessorische Chromosom in Spermatogenese und Ovogenese der Orthopteren usw. Arch. f. Zellf. Bd. III.

Bunge, G. v. 1883. Über das Sauerstoffbedürfnis der Darmparasiten. Zeitschr. f. physiolog. Chemie. Bd. VIII.

—— 1889. Weitere Untersuchungen über die Atmung der Würmer. Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XIV.

Burian, R. 1906. Chemie der Spermatozoen, Ergebnisse der Physiologie. 5. Jahrg.

Busch, P. W. C. M. 1905—1906. Sur la localisation du glykogène de quelques parasites intestinaux. Arch. Internationales de Physiol. Vol. III.

Bütschli, O. 1892. Über den feineren Bau der contractilen Substanz in den Muskelzellen von Ascaris. Festschr. Leuckart. Leipzig.

Ciacio, C. 1910. Contributo alla distribuzione ed alla fisio-patologica cellulare dei lipoidi. Arch. f. Zellf. Bd. V.

Cremer, M. 1902. Physiologie des Glykogens. Ergebn. d. Physiol. Bd. I.

Deflandre. 1904. Journal de l'Anatomie.

Deineka, D. 1908. Das Nervensystem von Ascaris. Zeitschr. f. wiss. Zoologie. Bd. LXXXIX.

Dobell, C. C. 1908—1909. Chromidia and the Binuclearity Hypotheses: A Review and a Criticism. Journal of microscopical Science. Vol. LIII.

Doflein, F. 1909. Lehrbuch der Protozoenkunde. 2. Aufl. Jena.

Domaschko, A. 1905. Die Wandung der Gonade von Ascaris megalocephala. Arbeiten a. d. zool. Inst. Wien. Bd. XV.

Duesberg, J. 1907—1908. Der Mitochondrialapparat in den Zellen der Wirbeltiere und Wirbellosen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXI.

—— 1910a. Sur la continuité des éléments mitochondriaux des cellules sexuelles et des chondriosomes des cellules embryonnaires. Anat. Anz. Bd. XXXV.

—— 1910b. Les chondriosomes des cellules embryonnaires du poulet et leur rôle dans la génèse des myofibrilles etc. Arch. f. Zellf. Bd. IV.

—— (1910c). Nouvelles recherches sur l'appareil mitochondrial des cellules séminales. Arch. f. Zellf. Bd. VI.

Ehrlich, P. 1883. Über das Vorkommen von Glykogen im diabetischen und im normalen Organismus. (In: Frerichs: Plötzlicher Tod und Coma bei Diabetes.) Zeitschr. f. klin. Med. Bd. VI.

—— 1885. Das Sauerstoffbedürfnis des Organismus. Berlin.

Ehrlich, R. 1909. Die physiologische Degeneration der Epithelzellen des Ascarisdarms. Arch. f. Zellf. Bd. III.

Encyklopädie der mikroskopischen Technik, 2. Aufl. Berlin 1910.

Erdmann, Rh. 1910. Kern- und metachromatische Körper bei Sarcosporidien. Arch. f. Protistenkunde. Bd. XX.

Erhard, H. 1910. Studien über »Trophospongien«. Festschr. R. Hertwig. Bd. I. Jena.

Fauré-Frémiet. 1910a. Etude sur les mitochondries des Protozoaires et des cellules sexuelles. Arch. de l'Anat. Microscopique. T. XI.

Fauré-Frémiet, André Mayer et Georges Schaeffer. 1910b. Sur la microchimie des corps gras etc. Arch. de l'Anat. Microsc. T. XII.

Fichera, G. 1904. Über die Verteilung des Glykogens in verschiedenen Arten experimenteller Glykosurie. Beitr. z. pathol. Anat. und allgem. Pathol. Bd. XXXVI.

Fick, R. 1893. Über die Reifung und Befruchtung des Axolotleies. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LVI.

Fischer, A. 1899. Fixierung, Färbung und Bau des Protoplasmas. Jena.

Foster, M. 1865. On the existence of Glykogen in the tissues of certain Entozoa. Proc. Roy. Soc. Vol. XIV.

v. Fürth, 1903. Vergleichende chemische Physiologie der niederen Tiere. Jena.

Gierke, E. 1905. Das Glykogen in der Morphologie des Zellstoffwechsels. Beitr. zur pathol. Anat. u. allgem. Pothol. Bd. XXXVII.

—— 1907. Physiologische und pathologische Glykogenablagerung. Ergebnisse der allgem. Pathologie. Bd. XI. 2.

Goldschmidt, R. 1903. Histologische Untersuchungen an Nematoden. I. Zool. Jahrb. (Anat.). Bd. XVIII.

—— 1904. Über die Cuticula von Ascaris. Zool. Anz. Bd. XXVIII.

—— 1905. Der Chromidialapparat lebhaft funktionierender Gewebszellen. Zool. Jahrb. (Anat.). Bd. XXI.

—— 1905—1906. Mitteilungen zur Histologie von Ascaris. Zool. Anz. Bd. XXIX.

—— 1908. Das Nervensystem von Ascaris lumbricoides. I. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XC.

—— 1909a. Eischale, Schalendrüse und Dotterzellen der Trematoden. Zool. Anz. Bd. XXXIV.

—— 1909b. Das Nervensystem von Ascaris lumbricoides und megalocephala. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LII.

—— 1909—1910. Das Skelet der Muskelzelle von Ascaris nebst Bemerkungen über den Chromidialapparat der Metazoenzelle. Arch. f. Zellf. Bd. IV.

—— 1910. Das Nervensystem von Ascaris lumbricoides und megalocephala. III. Festschr. R. Hertwig. Bd. II. Jena.

Guilliermond, A. 1910. A propos des corpuscules métachromatiques ou graines de volutine. Arch. f. Protistenkunde. Bd. XIX.

Günthert, Th. 1910. Die Eibildung der Dytisciden. Zool. Jahrb. Bd. XXX.

Gurwitsch, A. 1904. Morphologie und Biologie der Zelle. Jena.

Hertwig, O. 1890. Vergleich der Ei- und Samenbildung bei Nematoden. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XXXVI.

Hertwig, R. 1898. Über Kernteilung, Richtungskörperbildung und Befruchtung von Actinosphärium Eichhorni. Abhdl. Bayer. Akad. d. Wiss. Bd. XIX.

—— 1899. Über Encystierung und Kernvermehrung bei Arcella vulgaris. Festschr. Kupffer. Jena.

—— 1902. Über Wesen und Bedeutung der Befruchtung. Sitzungsber. d. math.-phys. Kl. d. Kgl. Bayer. Akad. d. Wiss. Bd. XXXII.

—— 1903a. Über das Wechselverhältnis von Kern und Protoplasma. München.

—— 1903b. Über Korrelation von Zell- und Kerngröße und ihre Bedeutung für die geschlechtliche Differenzierung und die Teilung der Zelle. Biolog. Centralbl. Bd. XXIII.

Hertwig, R. 1905. Über das Problem der sexuellen Differenzierung. Verhdl. d. deutsch. zool. Gesellsch. Bd. XV.
—— 1907. Über den Chromidialapparat und den Dualismus der Kernsubstanzen. München.
Höber, R. 1906. Physikalische Chemie der Zelle und Gewebe. Leipzig.
Hofmeister, F. 1901. Die chemische Organisation der Zelle. Braunschweig.
Holmgren, E. 1903a. Über die »Trophospongien« der Nebenhodenzellen und der Lebergangzellen von Helix pomatia. Anat. Anz. Bd. XXII.
—— 1903b. Weiteres über die »Trophospongien« der Leberzellen und der Darmepithelzellen. Anat. Anz. Bd. XXII.
—— 1907. Über die Trophospongien der quergestreiften Muskelfasern usw. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXI.
—— 1908. Studien über die stofflichen Veränderungen der quergestreiften Muskelfasern. Skandin. Arch. f. Physiolog. Bd. XXI.
Hoven, H. 1910. Sur la histogénèse du système nerveux périphérique chez le poulet et sur le rôle des chondriosomes dans la neurofibrillation. Arch. de Biolog. Bd. XXV.
Issakowitsch, A. 1910. Die Randdrüsen von Porpita mediterranea usw. Festschr. R. Hertwig. Bd. I. Jena.
Jägerskiöld, L. A. 1894. Beiträge zur Kenntnis der Nematoden. Zool. Jahrb. Bd. VII.
—— 1898. Über die büschelförmigen Organe bei den Ascarisarten. Centralbl. f. Bakteriol. u. Parasitenk. Bd. XXIV.
Jörgensen, M. 1910. Zur Entwicklungsgeschichte des Eierstockeies von Proteus anguineus (Grottenolm). Festschr. R. Hertwig. Bd. I. Jena.
Kan Kato. 1909. Beitrag zur Frage des mikrochemischen Nachweises des Glykogens. Pflügers Arch. Bd. CXXVII.
Kanitz. 1910. Handbuch der Biochemie. Bd. II, 1. Jena.
Kleestadt, W. 1910. Beiträge zur Kenntnis des Kernglykogens. Frankf. Zeitschr. f. Pathol. Bd. IV.
Koltzoff, N. 1906. Studien über die Gestalt der Zelle. I. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXVII.
—— 1908. Ibid. II. Arch. f. Zellf. Bd. II.
Korschelt und Heider. 1902. Lehrbuch der vergleichenden Entwicklungsgeschichte. Jena.
Lee und Mayer. 1907. Grundzüge der mikroskopischen Technik. Berlin.
Leydig. 1885. Zelle und Gewebe. Bonn.
Lillie, R. S. 1902. On the oxidative properties of the Cell-Nucleus. The American Journal of Physiologie. Vol. VII.
Loeb, J. und Irving Hardesty. 1895. Über die Lokalisation der Atmung in der Zelle. Pflügers Archiv. Bd. LXI.
Loeb, J. 1899. Warum ist die Regeneration kernloser Protoplasmastücke unmöglich oder erschwert? Arch. f. Entw.-Mech. Bd. VIII.
—— 1908. Über den chemischen Charakter des Befruchtungsprozesses usw. Leipzig.
—— 1909. Die chemische Entwicklungserregung des tierischen Eies. Berlin.
Loos, A. 1896. Über den Bau des Oesophagus bei einigen Ascariden. Centralbl. f. Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten. Bd. XXI.
Lubarsch, O. 1906. Über die Bedeutung der pathologischen Glykogenablagerungen. Arch. f. pathol. Anat. Bd. CLXXXIII.

Lundegård, H. 1910. Ein Beitrag zur Kritik zweier Vererbungshypothesen usw. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XLVIII.

Macallum, A. B. 1889—1890. Contributions to the morphology and physiology of the Cell. Transactions of the Canadian Institute.

—— 1899. On the cytology of Non-Nucleated Organisms. Transactions of the Canadian Institute. Vol. VI.

—— 1908. Die Methoden und Ergebnisse der Mikrochemie in der biologischen Forschung. Ergebnisse der Physiologie. Bd. VII.

Marcus, H. 1906. Ei- und Samenreife bei Ascaris canis. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXVIII.

Martini, E. 1909. Über Subcuticula und Seitenfelder einiger Nematoden. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XCIII.

Masing. 1910. Über das Verhalten der Nucleinsäure bei der Furchung des Seeigeleies. Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiol. Chemie.

Mayer, A. 1908. Zur Kenntnis der Samenbildung bei Ascaris megalocephala. Zool. Jahrb. (Anat.). Bd. XXV.

Mayer, P. 1909. Zur Färbung des Glykogens. Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie. Bd. XXIV.

Meves, Fr. 1907. Über Mitochondrien bzw. Chondrionkonten in den Zellen junger Embryonen. Anat. Anz. Bd. XXXI.

—— 1908. Die Chondriosomen als Träger erblicher Anlagen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXII.

—— 1909. Über Neubildung quergestreifter Muskelfasern nach Beobachtungen am Hühnerembryo. Anat. Anz. Bd. XXXIV.

—— 1910a. Über Strukturen in den Zellen des embryonalen Stützgewebes, sowie über die Entstehung der Bindegewebsfibrillen, insbesondere derjenigen der Sehne. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXV.

—— 1910b. Über die Aussaat männlicher Mitochondrien im Ei bei der Befruchtung. Anat. Anz. Bd. XXXVI.

—— 1911. Über die Beteiligung der Plastochondrien an der Befruchtung des Eies von Ascaris megalocephala. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXVI.

Meyer, A. 1904. Orientierende Untersuchungen über Verbreitung, Morphologie und Chemie des Volutins. Bot. Zeitschr. Heft 7.

Michaelis, L. 1910. Die Theorie des Färbeprozesses. Handbuch der Biochemie. Bd. II, 1. Jena.

Moroff, Th. 1907. Die bei den Cephalopoden vorkommenden Aggregataarten als Grundlage einer kritischen Studie über die Physiologie des Zellkernes. Arch. f. Protistenk. Bd. XI.

—— 1909. Oogenetische Studien. I. Copepoden. Arch. f. Zellf. Bd. II.

—— 1910a. Entwicklung der Nesselzellen bei Anemonia usw. Arch. f. Zellf. Bd. IV.

—— 1910b. Über vegetative und reproduktive Erscheinungen bei Thalassicolla. Festschr. f. R. Hertwig. Bd. I. Jena.

Nassonow, N. 1897a. Sur les organes du système excréteur des Ascarides et des Oxyurides. Zool. Anz. Bd. XX.

—— 1897b. Über Spengels Bemerkungen usw. Zool. Anz. Bd. XX.

—— 1897c. Sur les glandes lymphatiques des Ascarides. Zool. Anz. Bd. XX.

—— 1900. Zur Kenntnis der phagocytären Organe bei den parasitischen Nematoden. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LV.

Nemilow. 1902. Zur Frage der amitotischen Teilung der Zellen. Anat. Anz. Bd. XXI.
Nowikoff, M. 1910. Zur Frage über die Bedeutung der Amitose. Arch. f. Zellf. Bd. V.
Ostwald, Wo. 1907. Über das Vorkommen von oxydativen Fermenten in den reifen Geschlechtszellen der Amphibien usw. Biochem. Zeitschr. Bd. VI.
Overton, 1902. Zusammenstellung in Pflügers Arch. Bd. XCII.
Pauli, W. 1908. Kolloidchemische Untersuchungen am Eiweiß. Dresden.
Pflüger, E. 1891. Die Quelle der Muskelkraft. Pflügers Arch. Bd. L.
—— 1903. Glykogen. Pflügers Arch. Bd. XCVI.
Popoff, M. 1907. Eibildung bei Paludina vivipara und Chromidien bei Paludina und Helix. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXX.
—— 1910. Ein Beitrag zur Chromidialfrage. Festschr. f. R. Hertwig. Bd. I. Jena.
Prowazek, S. v. 1908. Das Lecithin und seine biologische Bedeutung. Biolog. Centralbl. Bd. XXVIII.
—— 1910. Einführung in die Physiologie der Einzelligen (Protozoen). Leipzig.
Rauther, M. 1907a. Beiträge zur Kenntnis von Mermis albicans v. Sieb. mit besonderer Berücksichtigung des Haut-, Nerven- und Muskelsystems. Zool. Jahrb. (Anat.). Bd. XXIII.
—— 1907b. Über den Bau des Oesophagus und die Lokalisation der Nierenfunktion bei freilebenden Nematoden. Zool. Jahrb. (Anat.). Bd. XXIII.
—— 1909. Morphologie und Verwandtschaftsbeziehungen der Nematoden und einiger ihnen nahegestellter Vermalien. Ergebn. und Fortschr. d. Zool. Bd. I.
Reichenow, E. 1909. Untersuchungen über Hämatococcus pluvialis, nebst Bemerkungen über andre Flagellaten. Arb. aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. XXXIII. Hft. I.
Röhmann, F. 1908. Biochemie. Berlin.
Röhmann, F. und Spitzer, W. 1895. Bericht der deutsch. chemischen Gesellsch. Bd. XXVIII. S. 567.
Romieu, M. 1911. La spermiogénèse chez l'Ascaris megalocephala. Arch. f. Zellf. Bd. VI.
Rubner, M. 1909. Kraft und Stoff. Leipzig.
Růžička, V. 1906. Struktur und Plasma. Ergebn. der Anat. und Entwicklungsgesch. Bd. XVI.
Saake, W. 1893. Studien über Glykogen. Zeitschr. f. Biologie. Bd. XXIX.
Sachs, F. 1905. Die Nuclease. Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XLVI.
Schaxel, J. 1909. Die Morphologie des Eiwachstums und der Follikelbildung bei den Ascidien usw. Arch. f. Zellf. Bd. IV.
—— 1910a. Die Oogenese von Pelagia noctiluca usw. Zool. Anz. Bd. XXXV.
—— 1910b. Die Eibildung der Meduse Pelagia noctiluca usw. Festschr. f. R. Hertwig. Bd. I. Jena.
—— 1910c. Die Beziehungen des Chromatins zum Cytoplasma bei der Eireifung, Furchung und Organbildung des Seeigels Strongylocentrotus lividus. Zool. Anz. Bd. XXXVI.
—— 1910d. Das Zusammenwirken der Zellbestandteile bei der Eireifung, Furchung und ersten Organbildung der Echinodermen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXV.
Scheben, L. 1905. Beiträge zur Kenntnis des Spermatozoons von Ascaris megalocephala. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXXIX.
Schneider, A. 1866. Monographie der Nematoden. Berlin.

Schneider, K. C. 1902. Lehrbuch der vergleichenden Histologie der Tiere. Jena.
—— 1908. Histologisches Praktikum der Tiere. Jena.
Scott, F. H. 1899. On the Structure micro-chemistry and development of Nerve-Cells with special Reference to their Nuclein-Components. Transactions of the Canadian Institute. Vol. VI.
Spengel, J. W. 1897a. Bemerkungen zum Aufsatz von N. Nassonow usw. Zool. Anz. Bd. XX.
—— 1897b. Noch ein Wort über die Excretionszellen der Ascariden. Zool. Anz. Bd. XX.
Spitzer, W. 1895. Pflügers Archiv. Bd. LX.
Starke. 1895. Arch. f. Anat. und Physiologie.
Stolc, A. 1900. Beobachtungen und Versuche über die Verdauung und Bildung der Kohlehydrate, bei einem amöbenartigen Organismus Pelomyxa palustris. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXVIII.
Toldt, C. 1899. Über den feineren Bau der Cuticula von Ascaris megalocephala. Arb. a. d. Zool. Inst. Wien. Bd. XI.
—— 1904a. Die Saftbahnen in der Cuticula von Ascaris megalocephala. Zool. Anz. Bd. XXVII.
—— 1904b. Über die Differenzierungen in der Cuticula von Ascaris megalocephala. Zool. Anz. Bd. XXVIII.
Vejdovsky, F. 1907. Neue Untersuchungen über die Reifung und Befruchtung. Prag.
Veratti, E. 1902. Ricerche sulla fine struttura della fibre muscolare striata. Mem. Ist. Lombard. T. V. p. 19.
Verworn, M. 1891. Die physiologische Bedeutung des Zellkernes. Pflügers Arch. Bd. LI.
—— 1903. Die Biogenhypothese. Jena.
Voltzenlogel, E. 1902. Untersuchungen über den anatomischen histologischen Bau des Hinterendes von Ascaris megalocephala und Ascaris lumbricoides. Zool. Jahrb. (Anat.). Bd. XVI.
Wassilieff, A. 1907. Die Spermatogenese von Blatta germanica. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXX.
Weinland, E. 1901a. Über den Glykogengehalt einiger parasitischer Würmer. Zeitschr. f. Biologie. Bd. XLI.
—— 1901b. Über Kohlehydratzersetzung ohne Sauerstoffaufnahme bei Ascaris, ein tierischer Gärungsprozeß. Zeitschr. f. Biologie. Bd. XLII.
—— 1902a. Über die Bildung von Glykogen aus Kohlehydraten bei Ascaris. Zeitschr. f. Biologie. Bd. XLIII.
—— 1902b. Über ausgepreßte Extrakte von Ascaris lumbricoides. Zeitschr. f. Biologie. Bd. XLIII.
—— 1903. Über die Zersetzung stickstoffhaltiger Substanz bei Ascaris. Zeitschr. f. Biologie. Bd. XLV.
—— 1907. Weitere Beobachtungen an Calliphora, II. Zeitschr. f. Biologie. Bd. XLIX.
—— 1910. Handbuch der Biochemie. Bd. III, 2. Jena.
Zülzer, M. 1904. Beiträge zur Kenntnis von Difflugia urceolata, Carter. Arch. f. Protistenkunde. Bd. IV.

Tafelerklärung.

Sämtliche Figuren sind bei 145 mm Tubuslänge auf Objekttischhöhe gezeichnet.

Tafel XXXIV.

Sämtliche Figuren sind nach mit Carnoy fixierten Präparaten angefertigt, die mit Delafield-Bestscher Glykogenfärbung (wie im Text angegeben, Glykogen überall rot) gefärbt sind, mit Ausnahme von Fig. 16—18, die mit der im Text beschriebenen Modifikation der Flemmingschen Lösung fixiert und mit Best-Lichtgrün gefärbt wurden. Wo nicht anders angegeben, handelt es sich um *Ascaris lumbricoides*.

Fig. 12 mit Zeiss-Objektiv C, Comp. Ocular 12, alle andern mit Zeiss' 2 mm-Apochromat. Fig. 3 und 13 mit Comp. Ocular 2, Fig. 14, 17, 18 mit Comp. Ocular 4, Fig. 1, 2, 4—6, 8—10, mit Comp. Ocular 6, Fig. 7, 11, 16 mit Comp. Ocular 8, Fig. 15 mit Ocular 12.

Fig. 1. Glykogen im Follikel junger Ovogonien, letztere glykogenfrei.

Fig. 2. Ältere Ovogonien. Wanderung von Glykogen aus dem Wandepithel in die Ovogonien. Rachis enthält nur Spuren von Glykogen.

Fig. 3. Noch ältere Ovogonien. Wandepithel glykogenfrei, Ovogonien mit reichlich, Rachis nur mit Spuren von Glykogen.

Fig. 4. *Ascaris megalocephala*. Richtungsspindel in Glykogen eingebettet.

Fig. 5. *Ascaris megalocephala*. Reichlich Glykogen, das in Umgebung des zerfallenden Glanzkörpers gelöst wird.

Fig. 6. Flächenmuskelzelle des Oesophagus. Reichlich Glykogen, keine metachromatischen Stränge.

Fig. 7. Flächenmuskelzelle des Oesophagus. Zweiter Hungertag, Glykogen in Abnahme, metachromatische Stränge (meist quer getroffen) in Zunahme begriffen. Charakteristische Kernveränderungen während des Hungerns.

Fig. 8. Flächenmuskelzelle des Oesophagus. Fünfter Hungertag. Kein Glykogen mehr, reichlich metachromatische Stränge, Chromatin reagiert sauer.

Fig. 9. Flächenmuskelzelle des Oesophagus nach zweimaliger Dextroseinjektion an 2 Tagen, reichlich Glykogen, metachromatische Stränge in Abnahme begriffen, charakteristische Kernveränderungen.

Fig. 10. Flächenmuskelzelle des Oesophagus nach zweimaliger Dextroseinjektion an 2 Tagen, metachromatische Stränge haben Glykogenreaktionen angenommen.

Fig. 11. Darmepithelzellen, Auf- oder Abbau des Glykogens, Beziehungen zu den stark lichtbrechenden Körnchen, »Chrom.-App.« nur schwach am Stäbchensaum ausgebildet.

Fig. 12. Darmepithelzellen eines gut ernährten Tieres (frisch dem Wirtsdarm entnommen). »Chrom.-App.« nur an Stäbchensaum entwickelt, stark lichtbrechende Körnchen liegen da, wo Glykogenbildung erfolgt.

Fig. 13. Darmepithelzellen nach zweimaliger Dextroseinjektion an 2 Tagen, sehr reichlich Glykogen, »Chrom.-App.« nicht ausgebildet.

Fig. 14. Darmepithelzellen, die Fortsätze in die cuticulare Grenzlamelle senden, strangförmige Anordnung des Glykogens, kein »Chrom.-App.«

Fig. 15a. Querschnitt durch tentakelartigen Fortsatz einer Wandzelle des Vas deferens, im inneren Glykogen enthalten.

Fig. 15b. Optischer Längsschnitt. Desgleichen.

Fig. 16. Phosphatidvacuolen um den Kern einer Körpermuskelzelle, mit fettigem Inhalt, der Osmiumsäure schwach reduziert. Im Kern an zwei Stellen Substanz, die Osmiumsäure ebenfalls schwach reduziert. (Glykogen rot.)

Fig. 17. Desgleichen. Zwei Phosphatidvacuolen liegen im Kern selbst. (Glykogen rot.)

Fig. 18. Desgleichen. Eine Phosphatidvacuole liegt im Kern, eine andre im Begriff die Kernmembran zu passieren. (Glykogen rot.)

Tafel XXXV.

Sämtliche Figuren sind nach mit Carnoy fixierten Präparaten angefertigt, mit Ausnahme von Fig. 39a, b, das mit der Modifikation der Flemmingschen Lösung konserviert wurde. Gefärbt wurden: Fig. 20 mit Benda, Fig. 22—26, 28—30, 34, 37, 38, 42—45 mit Delafield-Best, Fig. 27, 32 mit Weigert-Heidenhain-van Gieson; Fig. 31, 39a, b, 46, 47 mit Best-Bleu de Lion; Fig. 35, 36a, b mit Mallory. Wo nicht anders angegeben, handelt es sich um *Ascaris lumbricoides*.

Fig. 32 mit Zeiss' Objektiv C, Huyghens Ocular 1, alle übrigen mit Zeiss' 2 mm-Apochromat. Fig. 31 mit Comp. Ocular 2, Fig. 21, 27—29, 34, 37 mit Comp. Ocular 4, Fig. 20, 22, 26, 30, 35, 36a, b, 43, 44, 46 mit Comp. Ocular 6, Fig. 23, 24, 45 mit Comp. Ocular 8, Fig. 25, 33, 47 mit Comp. Ocular 12.

Fig. 20. Kappenartiges Aufliegen der Stützfibrillen am Kern einer Körpermuskelzelle.

Fig. 21. Querschnitt durch die Cuticula.

Fig. 22. Körpermuskelzelle der Kopfregion, starker Verbrauch und Adhärieren des Glykogens (rot) an den Stützfibrillen.

Fig. 23. Verteilung des Glykogens (rot) im Mark und in der kontraktilen Rinde einer Körpermuskelzelle.

Fig. 24. Desgleichen. Bei *Heterakis maculosa*.

Fig. 25. Bildungszelle der Cuticula des Uterus mit Glykogen (rot).

Fig. 26. Papille des männlichen Hinterendes mit Glykogen (rot) enthaltender Stützzelle.

Fig. 27. Körpermuskelzelle der Kopfregion eines Hungertiers mit metachromatischen Strängen.

Fig. 28. Kantenzelle aus dem hintersten Teil des Oesophagus mit metachromatischen Strängen, die anders gefärbt als der Kern.

Fig. 29. *Ascaris megalocephala*, Flächenmuskelzelle durch Oesophagus, viel diffus verteiltes Glykogen (rot), wenig metachromatische Stränge zum Teil in Vacuolen liegend, einige Vacuolen leer.

Fig. 30. Flächenmuskelzelle des Oesophagus, viel Glykogen (rot), metachromatische Stränge verwaschen, in Auflösung befindlich (?).

Fig. 31. Querschnitt durch erstes, »Filter« des Vas deferens, Kernverschmelzungen oder Amitosen (?).

Fig. 32. Übersichtsbild des Oesophagus im Querschnitt mit metachromatischen Strängen in den Kantenzellen.

Fig. 33. *Ascaris melagocephala*, Seitenliniengewebe des Nervenrings mit Glykogen (rot) in Knotenpunkten der Waben.

Fig. 34. Spermatozoenresorption durch das Uterusepithel. In einer Zelle Glanzkörperreste und stark lichtbrechende Körperchen.

Fig. 35. Desgleichen. In den Falten der Zottenzellen sich auflösende Spermatozoen.

Fig. 36a. Desgleichen. Glanzkörperreste im Zelleib.

Fig. 36b. Umfließen eines schon in Degeneration befindlichen Spermatozoons.

Fig. 37. Desgleichen. Aufnahme von gelösten Spermatozoen.

Fig. 38. »Rost«-artige Durchbrechung der cuticularen Grenzlamelle des Darmes. Zwischen ihr und Kern »Chrom.-App.«.

Fig. 39a und b. Fettgranula in den Darmzellen, kein »Chrom.-App.«

Fig. 42. Bildungszelle des Füllgewebes mit Glykogen (rot), das Füllgewebe selbst glykogenfrei.

Fig. 43. Reifes Ei in Richtungskörperbildung begriffen mit viel Glykogen (rot).

Fig. 44. Desgleichen durch 5tägiges Hungern glykogenfrei gemacht.

Fig. 45. Spermatogonien, frei von Glykogen, Wandepithel reichlich Glykogen (rot).

Fig. 46. Spermatocyten in Substanz-»Ausschwitzung«, Aufnahme letzterer durch das Wandepithel.

Fig. 47. Desgleichen. Stärker vergrößert, ausgeschwitzte Substanz enthält Glykogen.

Tafel XXXVI.

Sämtliche Figuren sind nach mit Carnoy fixierten Präparaten angefertigt, mit Ausnahme von Nr. 51, das mit der Modifikation der Flemmingschen Lösung konserviert wurde. Gefärbt wurden: Fig. 41 mit Weigert-Heidenhain-van Gieson; Fig. 48 mit Weigert-Heidenhain; Fig. 49, 56 mit Magenta-Pikroindigcarmin; Fig. 50, 52 bis 54a—d, 59, 60 mit Delafield-Best; Fig. 51 mit Best-Lichtgrün; Fig. 19, 40, 55, 57, 58 mit Mallory.

Sämtliche Figuren mit Ausnahme von Nr. 59 und 60 mit Zeiss' 2 mm-Apochromat. Fig. 53 mit Comp. Ocular 2; Fig. 19, 40, 51, 52, 58 mit Comp. Ocular 4; Fig. 41 mit Comp. Ocular 6; Fig. 48—50, 55—57 mit Comp. Ocular 8; Fig. 54 mit Comp. Ocular 12; Fig. 59 und 60 Übersichtsbilder von nicht genau bekannter Vergrößerung.

Fig. 19. Verlauf der Stützfibrillen um den Kern einer Körpermuskelzelle.

Fig. 40. Darmzellen mit »Chrom.-App.«, der ganz anders gefärbt als Kernchromatin.

Fig. 41. Darmzellen mit mächtig entwickeltem, baumartig verästeltem »Chrom.-App.«. Tropfenbildung des letzteren.

Fig. 48. Flächenmuskelzelle des Oesophagus mit metachromatischen Strängen, diese homogen, teilweise kristalloider Zerfall.

Fig. 49. Stäbchensaum mit chromatischer Limitans.

Fig. 50. Dilatator des Chylusdarms mit metachromatischen Strängen, Stützfibrillen und Glykogen (rot).

Fig. 51. Ganglienzelle Nr. 23 mit Fett.

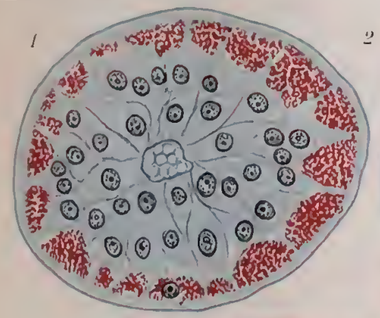
Fig. 52. *Fasciola hepatica.* Dotterzellen mit Glykogen, Schalentropfen und Spermatozoen.

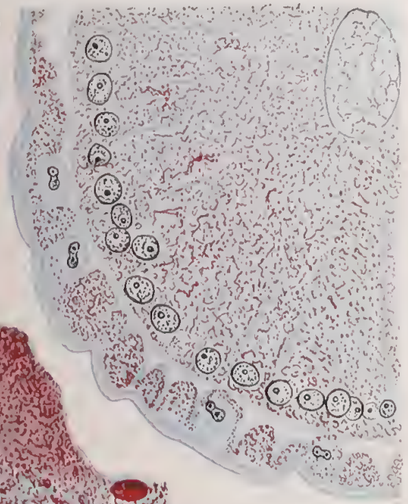
Fig. 53. *Fasciola hepatica.* Zusammengesetztes Ei, Dotterzellen mit Glykogen.

Fig. 54a—d. Ausbildung des Glanzkörpers, durch Verschmelzung der »Dotterkugeln« entstehend.

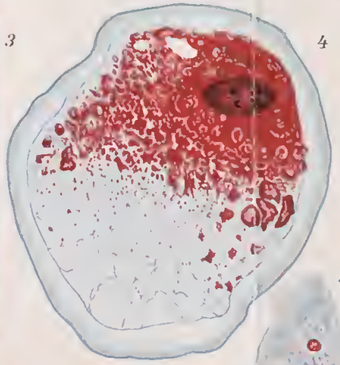
Fig. 55. Körpermuskelzelle mit beginnender (?) Chromatinsynthese. Phosphatidvacuolen drängen sich dicht um Kern. Schon etwas extranucleares Chromatin gebildet.

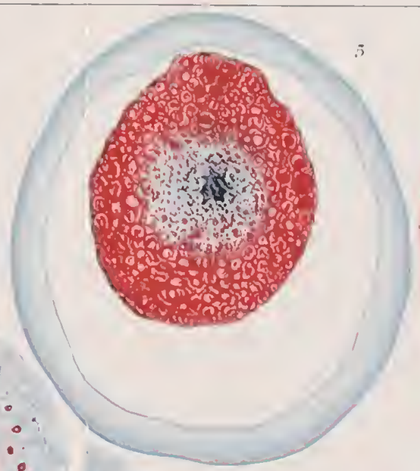
Fig. 56. Desgleichen. Vorgeschrittene Chromatinsynthese. Prochromatin in Vacuolen innerhalb der Fibrillen-»Kappe« liegend.

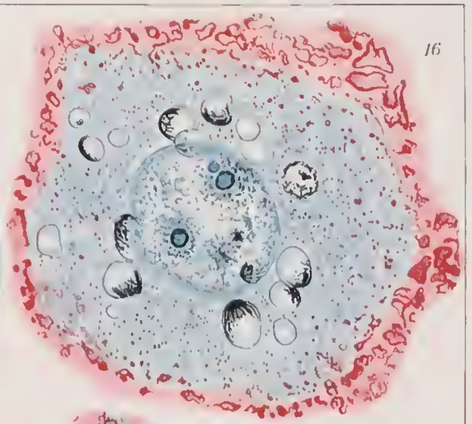

1

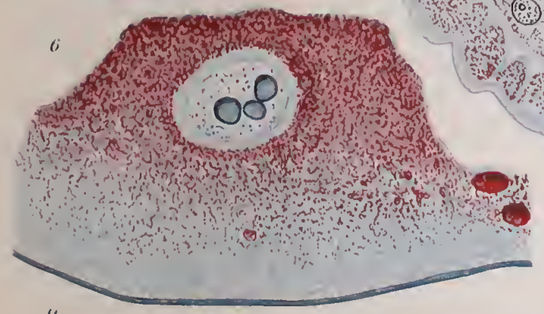

2

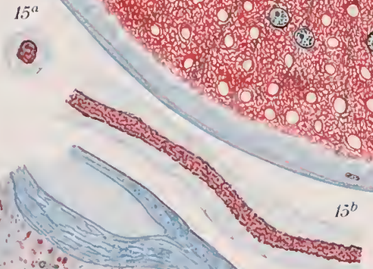
3


4

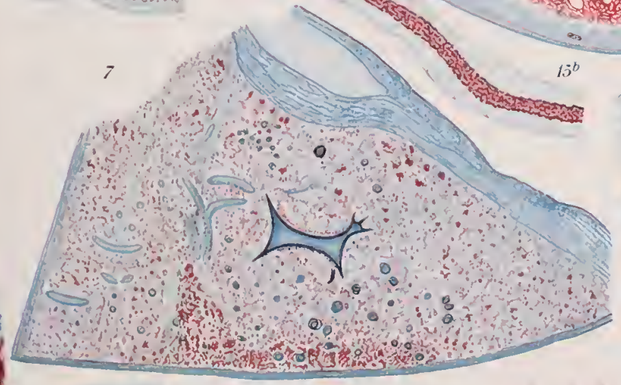

5

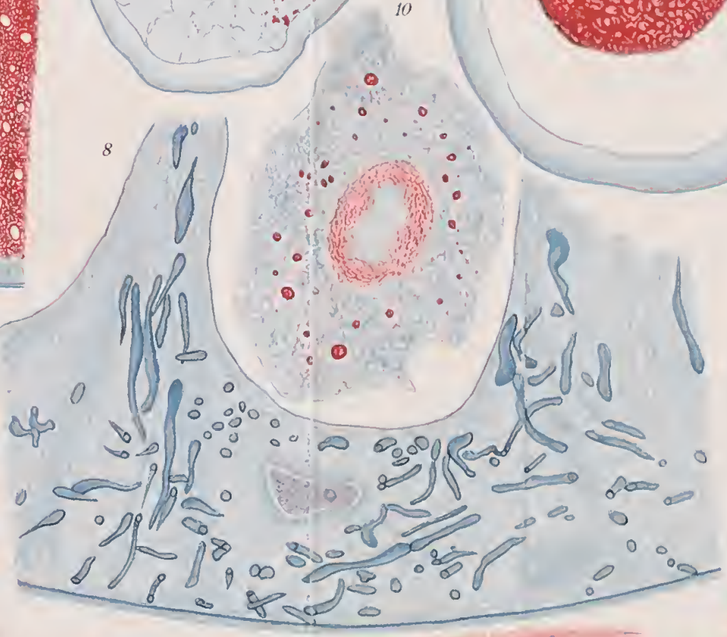

16

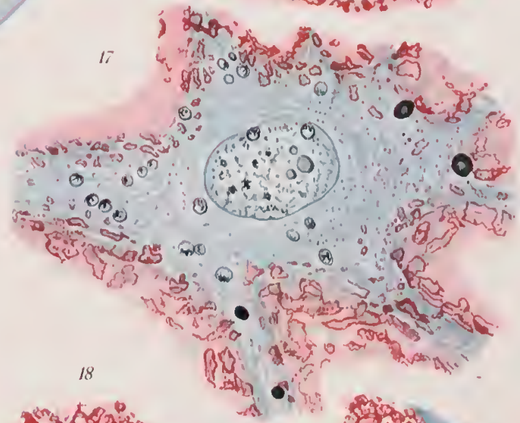

6


15a

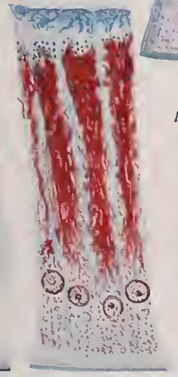
15b


7

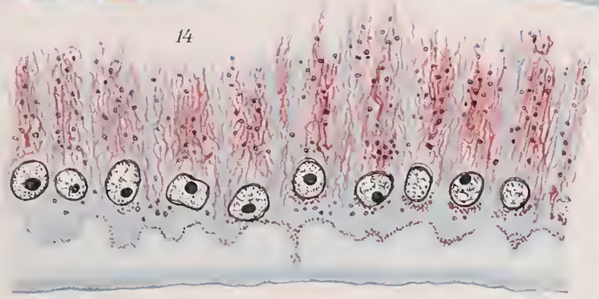

8

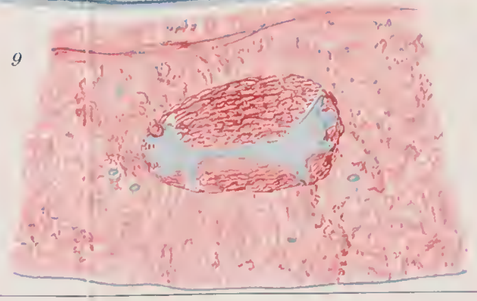

17

11

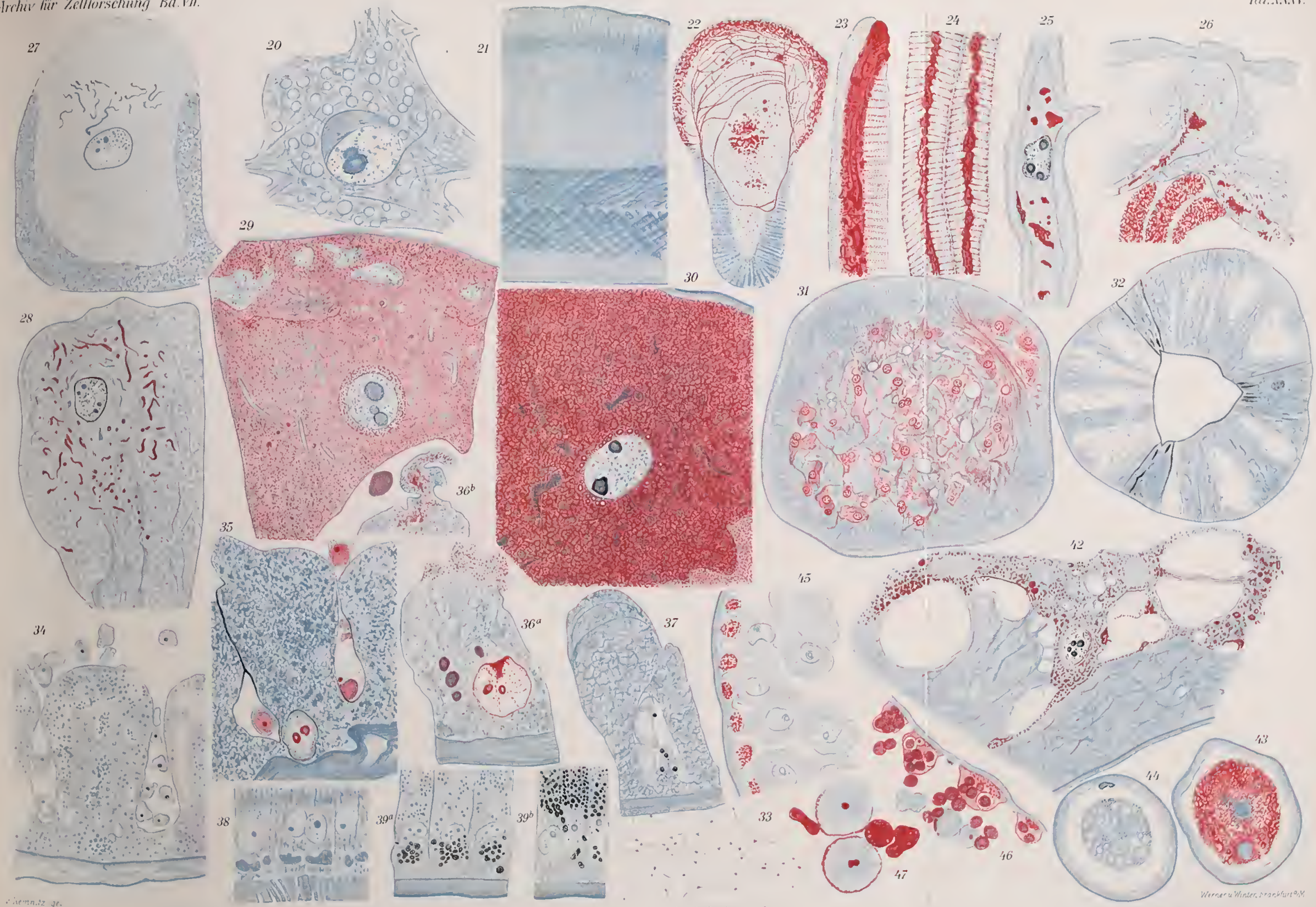

12

13


14

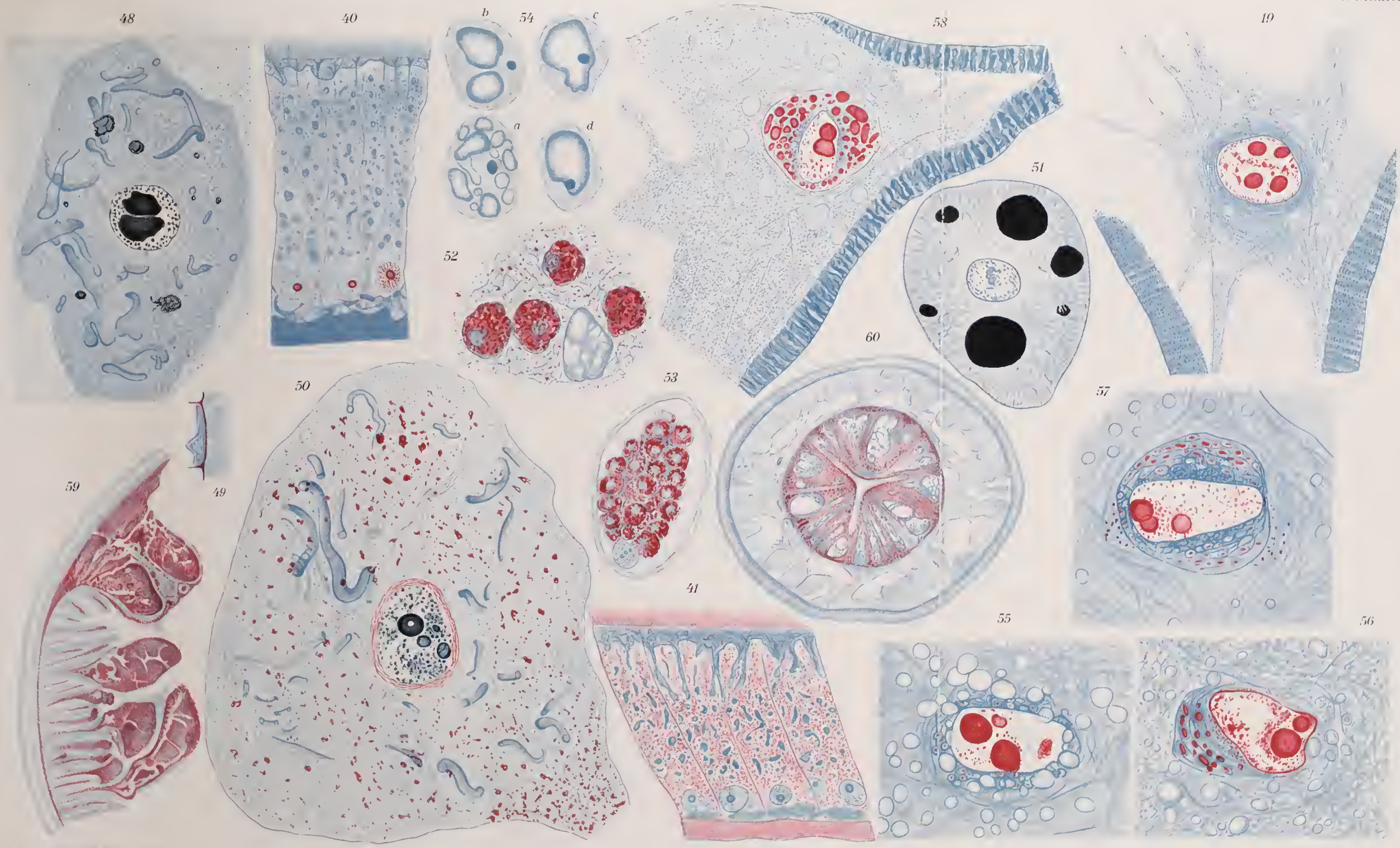

9

18



Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig

Werner u. Winter, Frankfurt a/M.



59 u. 60 E. Kiessling alle übrigen v. Kemnitz gez.

Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig

Werner & Winter Frankfurt a. M.

Fig. 1

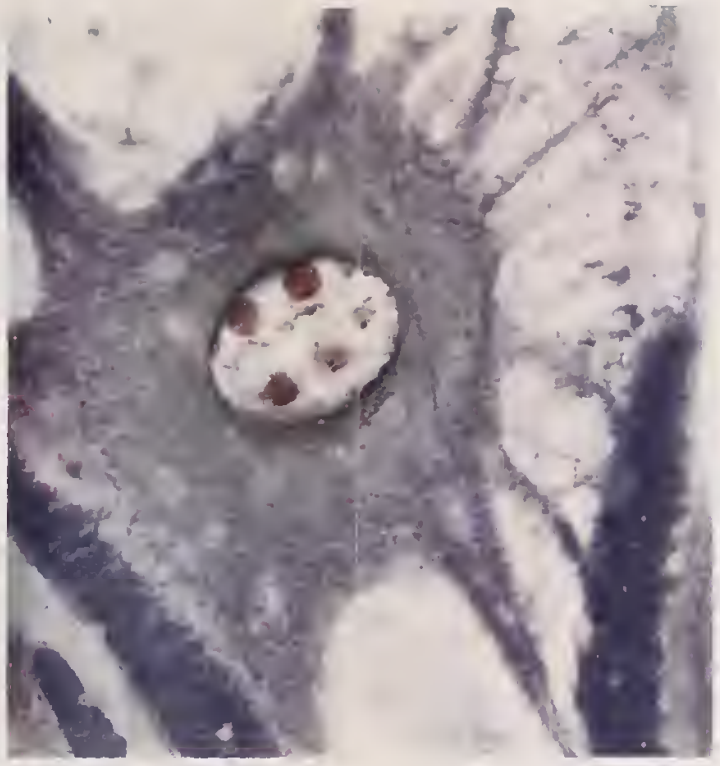


Fig. 2

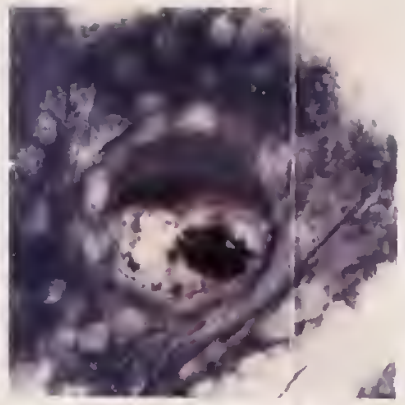


Fig. 3

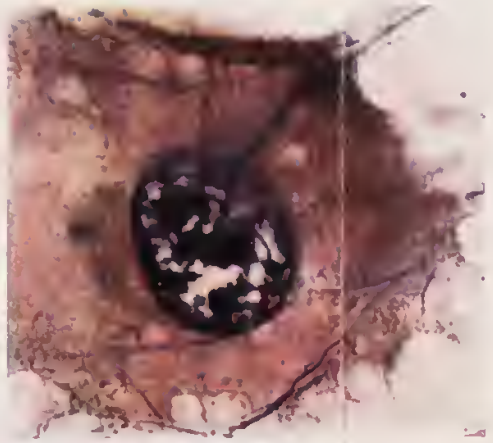


Fig. 4

Fig. 5

Fig. 6

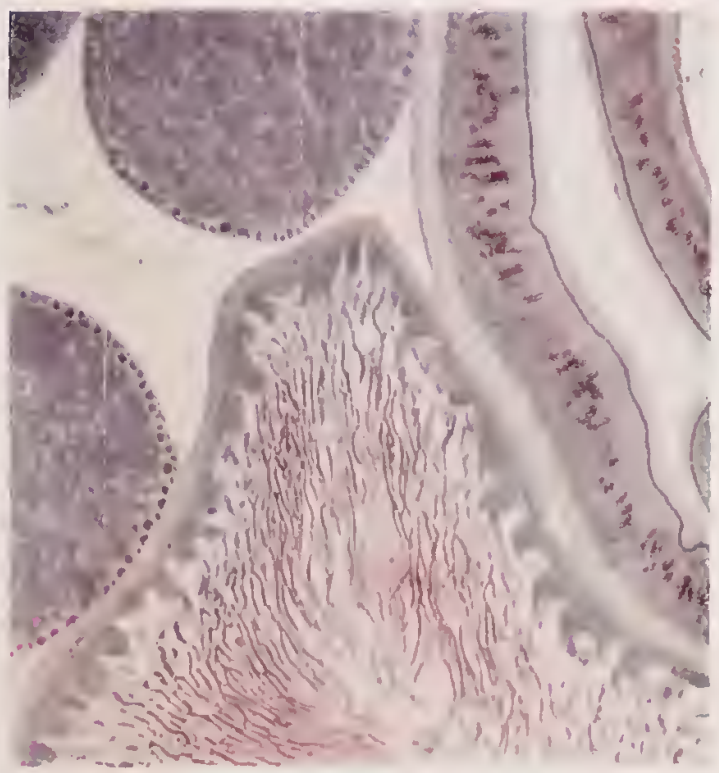


Fig. 7

Fig. 8

Kemnitz.

Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig.

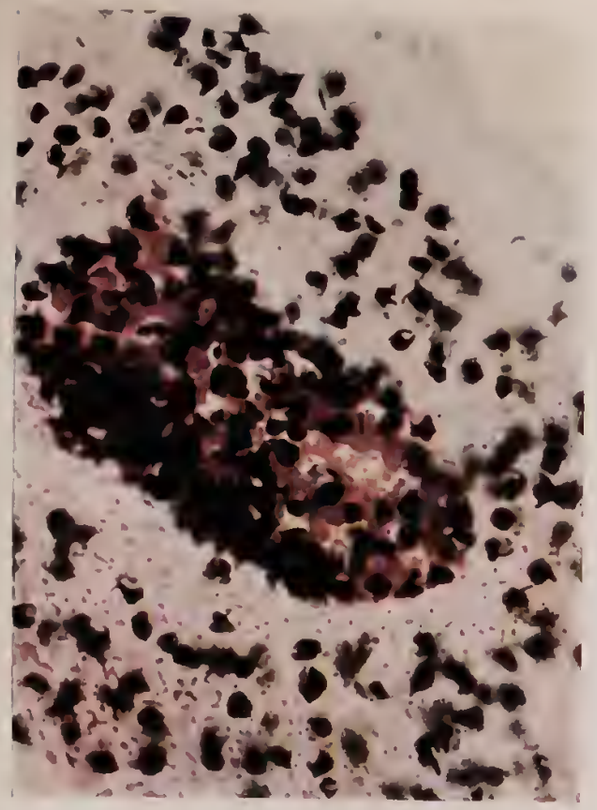


Fig. 9

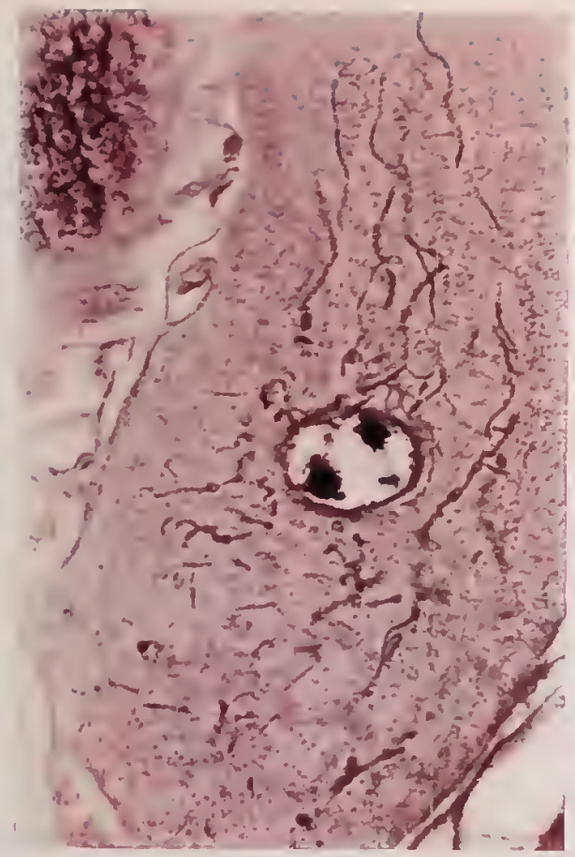


Fig. 15

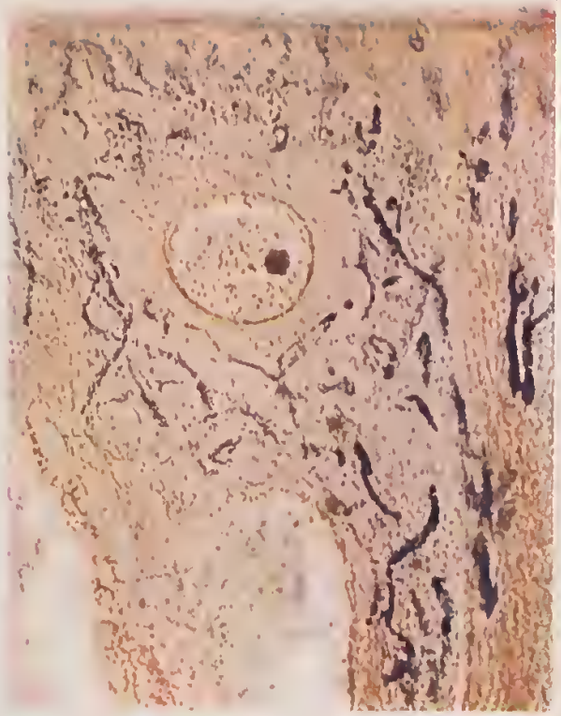


Fig. 13

Fig. 14

Fig. 10

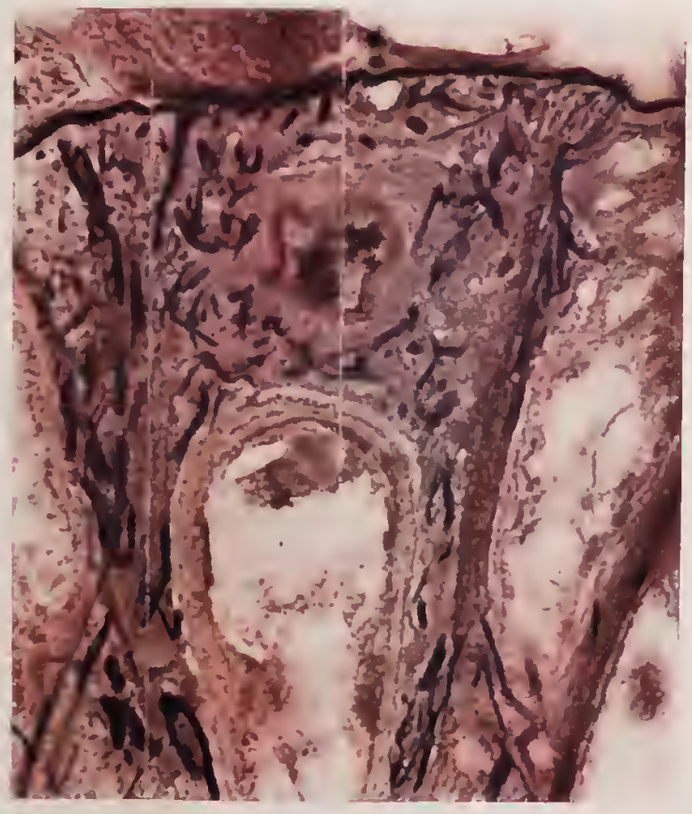


Fig. 12

Fig. 11

Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig.

Fig. 57. Desgleichen. Noch weiter vorgeschrittene Stadien. Viel Prochromatin im Fibrillenkörbchen, wenig Phosphatidvacuolen, Anlage der neuen Kernmembran.

Fig. 58. Mächtige Ausbildung von Prochromatin. Neue Kernmembran gebildet.

Fig. 59. Verteilung des Glykogens (rot) in Muskelzellen und Seitenlinie bei guter Ernährung.

Fig. 60. Verteilung des Glykogens (rot) im Oesophagus nach 2 Hungertagen.

Mikroaufnahmen.

Tafel XXXVII—XXXVIII.

Nr. 1. Körpermuskelzelle des Kopfabschnitts mit Skeletfibrillen und metachromatischen Strängen nach einem Goldpräparat Prof. Goldschmidts.

Nr. 2. Körpermuskelzelle mit Stützfibrillen und Füllgewebe. (Mallory).

Nr. 3. Desgleichen. Am Kern kappenartiges Aufliegen der Stützfibrillen. (Benda.)

Nr. 4. Desgleichen. Verlauf der Stützfibrillen. (Benda.)

Nr. 5. Durchtritt der Stützfibrillen einer Körpermuskelzelle durch kontraktile Rinde in die Subcuticula. (Benda.)

Nr. 6. Längsschnitt durch Seitenlinie und Excretionskanal, Glykogen (rot) im Seitenliniengewebe, Excretionskanal glykogenfrei. (Delafield-Best.)

Nr. 7. Übersichtsbild der Glykogenverteilung (rot) im Darm, Hoden und den »tentakelartigen Fortsätzen« der Zellen des Vas deferens . (Delafield-Best.)

Nr. 8. Querschnitt durch ein Spiculum mit Glykogen (rot). (Delafield-Best.)

Nr. 9. Beziehungen zwischen Glykogen und Fett im Seitenliniengewebe, Glykogen (rot)- und Fett (schwarz)-»Nester«. (Best-Lichtgrün.)

Nr. 10. Querschnitt durch Subcuticula. Verteilung von Glykogen (rot) und Fett (schwarz). (Best-Lichtgrün.)

Nr. 11. Metachromatische Stränge um Kern einer Oesophagusflächenzelle. (Carnoy-Fixation, Stränge homogen anders gefärbt als Kernchromatin, Weigert-Heidenhain-van Gieson-Färbung.)

Nr. 12. Desgleichen. (Bendas Mitochondrienfärbung.)

Nr. 13. Desgleichen. (Sublimatfixation, Triacidfärbung.) Stränge vacuolisiert, anders gefärbt als Kernchromatin.

Nr. 14. Chromatin-Synthese und Neubildung der Kernmembranen um Kern einer Körpermuskelzelle. (Mallory.)

Nr. 15. Dilatator des Chylusdarms mit metachromatischen Strängen nach einem mit Hämatoxylin-chromsaur. Kali gefärbten Präparat Prof. Goldschmidts. (Entspricht Fig. 20, Taf. III, bei Goldschmidt [1905].)

Nr. 2—6, 8—14 mit Zeiss' 2 mm-Apochromat, Projektions-Ocular 2. Nr. 1 und 7 mit Trockensystemen.

Recherches sur l'évolution des cellules-nourricières du pollen, chez les Angiospermes.

Par

Jean Bonnet.

(Travail du Laboratoire de Botanique de la Faculté des Sciences de l'Université de Toulouse.)

Avec 17 figures dans le texte et planches XXXIX—XLV.

Index.

Pages

I. Introduction 605
II. Matériel et technique 606
III. Généralités 608
IV. L'évolution des cellules-nourricières 610
1. La différenciation 610
2. L'état adulte 614
3. La sénilité 626
A. Les modifications nucléaires 626
a) les mitoses 626
b) les karyogamies 644
c) la mort des noyaux 675
B. Les modifications plasmatiques 680
a) la vacuolisation 680
b) les formations chromidiales 681
c) la dislocation du plasma 700
V. Considérations générales 701
1. Les cellules-nourricières sont-elles des cellules goniales? 701
2. Quelques remarques 709
VI. Résumé 710
Index bibliographique 711
Figures 717

I. Introduction.

Il n'existe pas d'étude consacrée spécialement aux cellules-nourricières du pollen, soit chez les Angiospermes, soit chez les Gymnospermes, et on ne trouve à leur sujet, dans la littérature, que des données éparses et non coordonnées. En effet la très grande majorité des auteurs qui ont étudié les tissus de l'anthère ont fait porter leur attention exclusivement sur les microsporocytes et les phénomènes dont leurs noyaux sont le siège, et ne signalent qu'incidemment les apparences remarquables qu'ils ont pu apercevoir dans les cellules voisines.

Cependant les cellules-nourricières méritent une étude approfondie, aussi bien que les cellules goniales, aussi bien que les cellules de l'assise mécanique. Et cela pour diverses raisons.

Tout d'abord, certains auteurs pensent que ces cellules ne sont point par leur origine phylétique différentes des cellules goniales, mais ne sont que les plus externes d'entre elles, qui, cessant de poursuivre leur évolution en vue de la production d'éléments reproducteurs, se sont spécialisées dans une direction différente. Au lieu de donner elles aussi des corps sexuels, elles se seraient réservé des fonctions de nutrition, se détruisant peu à peu au profit de leurs cellules-sœurs, qui continuent à évoluer dans le sens primitif. Il y aurait là une sorte d'adelphophagie, comparable à celle qui a lieu dans l'ovaire de nombreux animaux (Amphibiens et Téléostéens, Peter 1898; — *Lithobius*, Tönniges 1901; — Collemboles, Lécaillon 1901; — etc.), et par laquelle, si le nombre des éléments sexuels produits dans un même sac pollinique, — ou dans un même ovaire —, est très notablement diminué, la nutrition de ceux qui se forment est assurée dans des conditions parfaites.

Or, si réellement les cellules-nourricières sont des cellules goniales détournées de leur voie naturelle, il est intéressant d'y rechercher des vestiges de l'état primitif, et par là-même de voir quelles sont, parmi les caractéristiques des sporocytes, celles que la surimpression végétative a effacées, celles qui ont persisté; — et, inversement, la découverte de ces apparences trancherait définitivement le problème de la signification réelle des cellules-nourricières.

D'autre part les cellules-nourricières sont susceptibles de fournir une contribution intéressante à l'étude de la pathologie cellulaire, encore si mal connue. En effet, chez les Angiospermes, leur rôle est, après avoir atteint un grand développement, de dégénérer et de s'effriter peu à peu au profit du pollen en voie de formation. Mais, au cours de cette désintégration, il se produit dans leur organisme des phénomènes extrêmement

remarquables. De plus, cette période pathologique apparaît d'une manière normale et inévitable dans le cycle évolutif de la cellule; elle n'est pas pour elle un accident dû au hasard, comme par exemple l'hypertrophie et la maladie causées à des cellules d'une racine par un parasite (*Heterodera* par ex.), mais une crise de croissance inéluctable et nécessaire, ce qui permet de considérer aussi comme tels les procédés par lesquels la cellule réagit.

Enfin, nous verrons que beaucoup des aspects présentés par les cellules-nourricières séniles sont très analogues à ceux que la cytologie expérimentale a fait connaître. Les recherches de divers auteurs, et en première ligne de Němec, ont donné une importance capitale aux résultats que cette science a fournis chez les Végétaux supérieurs; et ici, et sur beaucoup de points, l'étude de la pathologie «normale» des cellules-nourricières sert en quelque sorte de critérium à celle de la pathologie expérimentale, et donne une importance particulière à certains des résultats que cette dernière a obtenus, en montrant dans quelle mesure ils se retrouvent chez la plante, dans les conditions ordinaires de la vie.

J'ai cherché à apporter une contribution à l'étude de ces problèmes, en prenant comme objet d'études les cellules-nourricières du pollen des Angiospermes.

Ce travail a été fait au Laboratoire de Botanique de la Faculté des Sciences de l'Université de Toulouse, sous la direction de mon maître, Monsieur le Professeur Leclerc du Sablon, qui m'en a indiqué le sujet et qui a mis à mon entière disposition toutes les ressources de ses laboratoires. C'est grâce à lui que j'ai pu mener ce travail à bonne fin.

Je dois aussi de vifs remerciements à Monsieur le Docteur P. Dop, chargé de cours de Botanique à la Faculté des Sciences, pour l'intérêt avec lequel il a suivi mes recherches et pour les conseils pratiques qu'il m'a donnés à maintes reprises.

II. Matériel et Technique.

Les plantes dont l'étude constitue la base de cette étude sont une Monocotylédone: *Yucca gloriosa* L.

et six Dicotylédones: *Atropa Belladona* L.
Datura Stramonium L.
Cobœa scandens Cav.
Helleborus viridis L.
Hyoscyamus albus L.
Fuchsia sp.

Accessoirement, j'ai aussi étudié *Hemerocallis fulva* L.
Asphodelus albus Mill.
Acanthus mollis L.

Les boutons floraux, fendus dans le sens de la longueur, ont été fixés avec les liquides suivants: mélanges de Flemming, de Merkel, de Bouin, de Brasil, et formol platinique, préparé suivant la formule de M. et P. Bouin (1898) (p. 428):

chlorure de platine à 1%	70 parties,
formol à 40% d'aldéhyde	25 »
acide acétique	2,5 à 5 parties.

Fixation durant 12 à 24 heures. Lavage à l'alcool.

Dans quelques cas, l'air emprisonné entre les divers verticilles floraux fut chassé à l'aide de la trompe à eau, pour permettre une meilleure pénétration du réactif. Il est nécessaire de fixer des boutons floraux très jeunes, car, de même que l'évolution des cellules-mères du pollen, celle des cellules-nourricières s'effectue de très bonne heure, et, sur des anthères tant soit peu âgées, elles sont réduites à des lambeaux.

Comme toujours en histologie végétale, le liquide de Flemming m'a fourni des résultats excellents au point de vue des noyaux. Mais l'inconvénient qu'il a de noircir les corps gras est ici particulièrement grave. En effet le plasma des cellules-nourricières est toujours chargé de matières qui noircissent fortement par ce réactif. Il est vrai que cette coloration gênante s'en va assez facilement en plongeant les coupes dans de l'alcool à 70° additionné d'eau oxygénée (20 parties d'alcool, 1 de H^2O^2). Mais ce séjour a parfois du être très long (jusqu'à 24 heures pour le *Fuchsia*). De plus dans certains cas la coloration noire ne disparaît pas ainsi d'une façon complète; et ce traitement, s'il est tant soit peu brutal, amène des déformations de l'anthère. Enfin la structure du plasma n'est pas toujours conservée aussi nettement qu'il serait désirable par le liquide de Flemming, dans ces tissus profonds, où l'entrée du réactif, à travers les parois épaisses et particllement lignifiées du sac pollinique, est assez difficile.

Le liquide de Merkel fournit aussi d'excellentes images nucléaires, quoique moins précises que le Flemming, mais fixe mieux le détail du protoplasme, bien qu'il ait une tendance à exagérer sa structure fibrillaire.

Quant aux liqueurs de Bouin et de Brasil, elles offrent le grand inconvénient de nécessiter des lavages à l'alcool extrêmement longs, sans lesquels il reste dans les tissus des traces d'acide picrique qui gênent

considérablement les colorations. Elles ne m'ont pas donné de bons résultats.

Enfin le formol platinique m'a fourni chez la Jusquiame des fixations excellentes de tous points, comparables à celles que donne le Flemming, et il a sur ce dernier l'énorme avantage de ne pas noircir les tissus.

Les coupes ont été faites à une épaisseur variant de 4 à 10 μ. Les épaisseurs faibles permettent une étude approfondie des divisions karyokinétiques; les coupes plus épaisses sont plus démonstratives dans certains cas.

Toutes les préparations ont été colorées par la méthode de M. Heidenhain, et plus ou moins différenciées suivant les points que l'on désirait plus spécialement étudier. Les colorations ainsi obtenues ont été parfaites de tous points; leur opacité et leur netteté les rendent particulièrement favorables à l'étude par les objectifs puissants. Leur seul inconvénient est, comme l'a déjà remarqué Maréchal, d'être un peu subjectives, un peu à la merci de l'opérateur, suivant le degré de la décoloration. Aussi convient-il de n'interpréter les images qu'elles fournissent qu'avec prudence.

La méthode triple de Flemming s'est révélée d'une application particulièrement difficile, et n'a pas fourni de bons résultats, ce qui tient en majeure partie à l'énergie très grande avec laquelle le plasma des cellules-nourricières retient la safranine et le violet de gentiane.

L'étude des préparations est extrêmement longue, à cause de la nécessité d'observer méticuleusement à un assez puissant grossissement chaque cellule en particulier. Un objectif très commode pour ce faire est l'objectif apochromatique 3 mm. à sec de Zeiss, qui est d'une grande luminosité, et qui, à cause de sa bague à correction, fournit toujours des images très nettes; — il donne des grossissements très suffisants pour une première approximation, et est infiniment plus commode à employer qu'un objectif à immersion homogène. Mais il est inutile d'ajouter qu'il ne dispense nullement de l'emploi de ces derniers, absolument nécessaires pour l'étude définitive des points intéressants.

III. Généralités.

Chez les Ptéridophytes et les Spermaphytes, un microsporange (anthère) considéré un peu avant que les cellules-mères des spores (pollen) ne se divisent en tétrades, comprend 3 parties:

1. Une paroi, formée d'un nombre variable de plans cellulaires.

2. Un tissu central, formé de cellules à plasma dense. C'est le complexe des cellules sporogènes (cellules-mères définitives du pollen) de Goebel.

3. Une ou plusieurs couches cellulaires d'aspect spécial et caractéristique, interposées entre le complexe sporogène et la paroi du sporange: ce sont les cellules-nourricières ou cellules-tapètes (Tapetenzellen), dont l'ensemble constitue le tapetum ou tapis. Ces cellules possèdent elles aussi un plasma granuleux; au cours de leur évolution elles sont dissoutes ou dissociées en menus fragments, et leur plasma sert au développement des spores.

Goebel distingue deux sortes de tapètes:

1. Les tapètes plasmodiaux, dans lesquels les parois des cellules tapètes se détruisent; leur plasma émigre entre les sporocytes isolés et y disparaît. Les Filicinae, les Equisétinées, les microsporanges des Spermaphytes possèdent des tapètes plasmodiaux typiques. —

2. Les tapètes sécréteurs, dans lesquels les cellules persistent jusqu'au moment de la maturation des spores, mais où elles sécrètent certainement des substances solubles qui sont utilisées par les sporocytes. Les sporanges des Lycopodineae, et spécialement ceux de la Sélaginelle et de l'Isoëtes, ont un tapète sécréteur.

Comme le fait justement remarquer Goebel, il existe d'ailleurs de nombreux intermédiaires entre les tapètes plasmodiaux et les tapètes sécréteurs. Un bon exemple de ces cas intermédiaires est fourni par les tapètes des microsporanges de certaines Angiospermes, qui non seulement jouent le rôle nutritif ordinaire en se morcelant en lambeaux qui émigrent entre les grains de pollen, mais de plus sécrètent des substances spéciales. C'est par exemple le cas chez les Asclépiadées, où Dop (1903) a montré que la cire qui revêt la surface des pollinies se forme dans les cellules-nourricières, où elle apparaît sous forme de petites granulations qui émigrent ensuite à la surface interne de la cellule et se fusionnent là en une couche continue, au contact immédiat de la masse des grains de pollen.

De plus, la classification indiquée ci-dessus souffre des exceptions. Par exemple, d'après Beer (1911), le tapète de *Ipomœa purpurea* ne se désintègre jamais, et est donc un tapète sécréteur.

L'idée de cellule-tapète n'est d'ailleurs pas morphologique, mais uniquement fonctionnelle, puisque certains auteurs l'ont étendue au megasporange des Angiospermes et des Gymnospermes.

Le présent travail, consacré uniquement aux Angiospermes, ne porte que sur les tapètes plasmodiaux.

IV. L'évolution des cellules-nourricières.

1. La différenciation[1]).

Tous les tissus différenciés de chaque sac pollinique proviennent de l'assise sous-épidermique de l'anthère. Lorsque celle-ci est encore très jeune, on constate que, suivant des bandes qui correspondent aux futurs sacs polliniques, l'assise sous-épidermique se différencie. Ses cellules grossissent, leur plasma devient plus réfringent, leur nucléole augmente de taille, leur réseau nucléaire prend un développement considérable. Ce sont ces cellules que Corry (1884) appela chez *Asclepias cornuti* l'archesporium, Coulter (1898) chez *Ranunculus* archespores, — mot qui depuis a été détourné souvent de son sens primitif —, et Rosenberg (1899), chez *Drosera rotundifolia*, protarchespores, terme préférable aux premiers.

Ces protarchespores se divisent par une cloison tangentielle, donnant ainsi deux plans cellulaires superposés: le plan interne est formé de cellules qui sont les cellules-mères primordiales du pollen, — ou archespores de Rosenberg —, qui donnent après plusieurs séries de divisions karyokinétiques les cellules-mères définitives, et rien qu'elles. L'assise externe, située par conséquent entre les cellules-mères primordiales et les cellules épidermiques, se divise à nouveau tangentiellement, et donne:

a) une assise interne, située au contact des archespores, et qui deviendra l'assise nourricière.

b) une assise externe, située entre l'assise nourricière et l'épiderme. Celle-ci subit une nouvelle division tangentielle, qui produit un plan cellulaire interne, qui deviendra l'assise transitoire, et un externe, qui donnera l'assise mécanique. Celle-ci pourra plus tard se diviser encore par des plans tangentiels (*Lilium*), mais les diverses couches de cellules ainsi formées évolueront toutes dans le même sens: toutes deviendront des cellules mécaniques.

Ainsi donc cette série de cloisonnements centrifuges a engendré, de dedans en dehors, quatre plans cellulaires en forme d'arcs:

a) assise goniale
b) » nourricière
c) » transitoire
d) » mécanique.

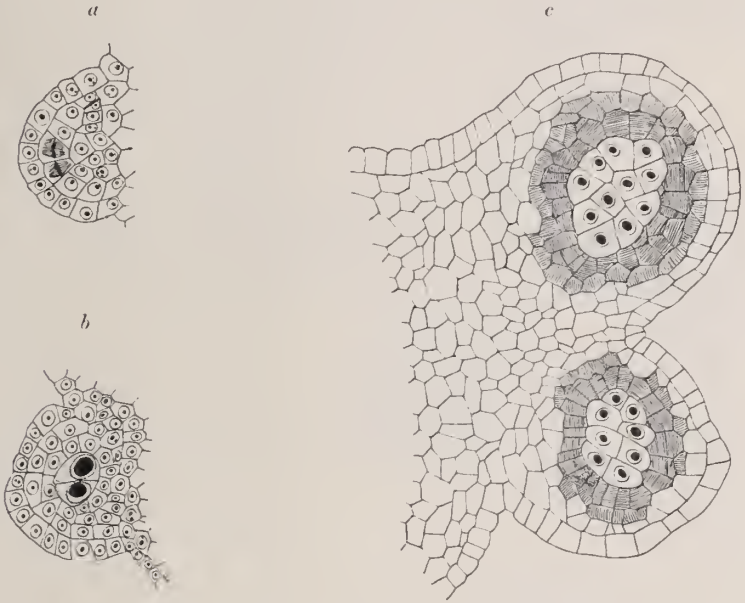
---

[1]) Dans l'exposé qui suit, les exceptions, assez nombreuses et variées, au mode général de développement, sont laissées de côté. Pour ces exceptions, ainsi que pour les détails du développement, voir Coulter et Chamberlain (1903, p. 27—36).

L'assise nourricière et l'assise transitoire constituent ensemble le tapetum.

Pendant que les couches externes se différencient, les archespores se divisent suivant des directions quelconques, et engendrent ainsi un massif cellulaire en forme de croissant (*Datura*, *Malva*, *Hyoscyamus*), ou de cylindre (*Symphytum*, *Campanula*, *Cobæa*, etc.).

Fig. 1.



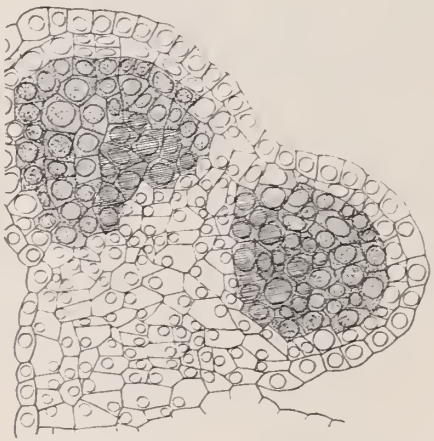
a, *Cobæa scandens*. Première division des protarchespores. — *b*, *Cobæa scandens*. Deux archespores différenciées. L'assise nourricière en voie d'individualisation. — *c*, *Cobæa scandens*. L'assise nourricière est différenciée. Dans le sac pollinique inférieur l'assise transitoire est en voie de différenciation. Elle est entièrement formée dans le sac supérieur.
Obj. apochr. 3 mm. imm. homog. Zeiss × oc. comp. 4.

La fig. 1a représente dans *Cobæa scandens* le premier cloisonnement des cellules sous -épidermiques. On voit deux de celles-ci, particulièrement volumineuses (protarchespores), dont le noyau est en voie de karyokinèse. — La fig. 1b montre un niveau plus élevé du même sac pollinique; deux archespores sont différenciées. — Dans la fig. 1c se voit un stade plus avancé. Les archespores se sont multipliées de manière à former un cylindre. Dans le sac pollinique inférieur l'assise nourricière est entièrement différenciée, et l'assise transitoire en voie de formation, tandis que dans le sac supérieur celle-ci aussi est complètement individualisée.

La fig. 2 est une coupe transversale dans une jeune anthère de *Hyoscyamus albus*. Les cellules goniales forment ici une masse en forme de croissant; au dehors, on voit l'assise nourricière, et, entre celle-ci et l'épiderme, l'assise sous-épidermique, qui doit encore subir un dédoublement tangentiel, de manière à donner les deux assises encore absentes.

Ces divers plans cellulaires ne gardent que peu de temps la forme d'arcs, parce qu'ils se complètent aux dépens des tissus plus internes de l'anthère. Dans la fig. 2, j'ai indiqué par des traits parallèles les cellules qui, on peut le prévoir, se différencieront ainsi, et qui se distinguent déjà par un plasma plus dense et un noyau plus gros. Les unes donneront des cellules-nourricières, d'autres des cellules-transitoires. Seule, l'assise mécanique demeurera limitée à la partie externe du sac pollinique, au contact direct de l'épiderme. On aura alors un aspect analogue à celui de la fig. 3, qui a rapport au *Fuchsia*: au centre on voit les cellules-mères du pollen; tout autour une couche de cellules pourvues d'un noyau très volumineux, qui sont les cellules nourricières; — tout autour encore l'assise transitoire, dédoublée presque sur toute son étendue; et enfin, au dehors, les cellules mécaniques, très nettement reconnaissables à leur section parfaitement rectangulaire, et qui, on le voit, n'existent que sur les faces externes de la loge.

Fig. 2.

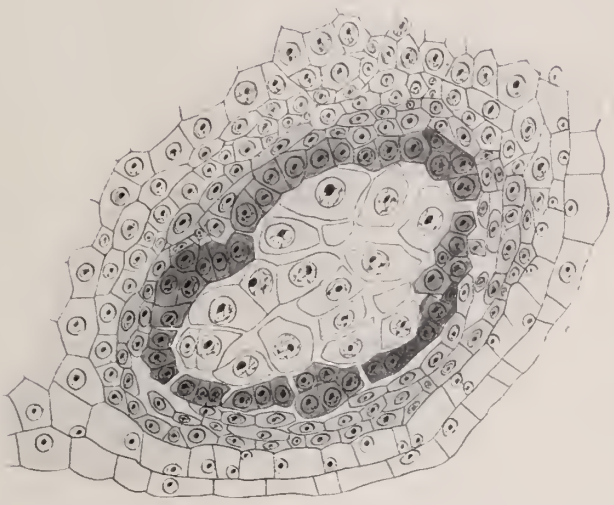


Hyoscyamus albus. Différenciation des divers tissus de l'anthère.
Obj. apochr. 3 mm. imm. homog. Zeiss × oc. comp. 4.

Dès leur apparition, les cellules-nourricières sont carrées en section, et non pas rectangulaires, et Rosenberg (1899) a bien montré à quelle particularité est dûe cette apparence remarquable.

Tandis que les cellules-nourricières sont carrées, leurs cellules-sœurs, issues de la même division qu'elles, sont très aplaties dans le sens radial. Or on constate que, lorsque les cellules-mères du tapetum vont se diviser, leur noyau est toujours situé à la face externe, presque accolé à la membrane. Le noyau demeure dans cette position durant toute la mitose, de sorte que, lorsque la cloison cellulosique se forme, comme normalement,

Fig. 3.

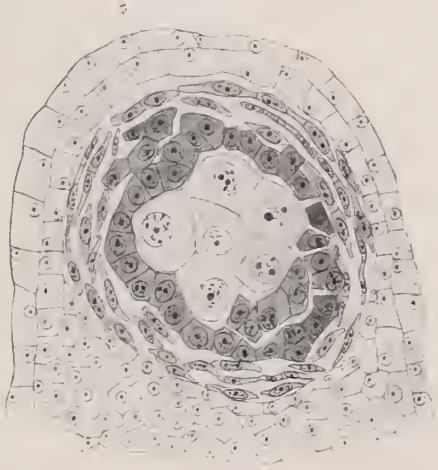


Fuchsia. Coupe dans un jeune sac pollinique. Obj. apochr. 3 mm. à sec Zeiss × oc. comp. 4.

à l'équateur du fuseau, la cellule-mère se trouve divisée en deux portions inégales: une interne, presque isodiamétrique, qui est la cellule-nourricière; — une externe, très aplatie, qui se divisera à nouveau pour engendrer une cellule-transitoire et une cellule-mécanique.

Les cellules germinales se multiplient activement, et les cellules nourricières augmentent beaucoup leurs dimensions; de sorte que les cellules transitoires, situées entre des tissus qui se gonflent et d'autres (tissus méristématiques de l'anthère ou assise mécanique) qui ne se déforment pas, s'aplatissent d'une manière extrême dans le

Fig 4.



Fuchsia. Début de l'écrasement des cellules transitoires. Obj. apochr. 3 mm. à sec Zeiss × oc. comp. 4.

sens radial, et au contraire s'allongent dans le plan tangentiel, de manière à prendre la forme de disques très plats. Cet aplatissement est déjà bien visible sur la fig. 3. Il est très nettement marqué dans la fig. 4, où l'assise nourricière est dédoublée en deux points de son étendue; — et, lorsque les cellules-nourricières et les cellules-mères du pollen auront pris leur développement définitif, l'assise transitoire sera réduite à un cordon cellulaire presque invisible, littéralement écrasé entre les cellules-nourricières et les tissus périphériques.

Les cellules-nourricières grandissent donc en dimensions dans tous les sens, aussi bien tangentiels que radiaux; ce n'est qu'assez rarement qu'il s'y effectue des mitoses à phragmoplaste tangentiel, aboutissant donc à la formation d'une cloison radiale, comme la fig. 9, relative à *Hemerocallis fulva*, en montre quelques-unes. Ce fait que les cellules-nourricières suivent l'accroissement des dimensions de l'anthère simplement en augmentant leurs dimensions, mais sans se diviser, paraît être d'un ordre assez général. Lagerberg (1909) l'a aussi signalé chez *Adoxa moschatellina*.

Ainsi donc les cellules-nourricières se différencient aux dépens de deux tissus différents: d'une part l'assise sous-épidermique, et de l'autre les tissus méristématiques de l'anthère. Mais en fin de compte cette double origine se ramène à une seule, étant donné que à leur tour les tissus corticaux de l'anthère proviennent des initiales situées dans la couche sous-épidermique.

Le tapetum a par conséquent la signification embryologique d'un tissu cortical.

2. L'état adulte.

Une fois définitivement constitué, le tapetum comprend donc deux sortes de cellules, bien différentes les unes des autres:

1. les cellules-nourricières.
2. les cellules-transitoires.

1. Les cellules transitoires.

Elles sont disposées sur plusieurs assises, deux ou trois en général (figs. 4, 10). Comme je l'ai déjà dit, elles sont très étroites dans le sens radial, et très allongées dans le sens tangentiel. Cet aplatissement est souvent si considérable que leur noyau a sur les sections la forme d'un bâtonnet. A cause de cet écrasement, il est très difficile de suivre leur évolution et les phénomènes intimes dont elles sont le siège. Mais finalement elles subissent le même sort que les cellules-nourricières: elles se disloquent en fragments et finissent par disparaître.

2. Les cellules nourricières.

Ce sont des cellules ne laissant pas de méats entre elles, situées au contact direct des cellules goniales, qu'elles enveloppent d'un manchon clos. Nous dirons que l'assise nourricière est définitivement constituée lorsque il ne s'y produit plus de cloisonnements radiaux.

Fig. 5.

Yucca gloriosa. Coupe dans un sac pollinique plus âgé. Plusieurs cellules-nourricières sont polynucléées. Obj. apochr. 1 mm. 5 imm. homog. Zeiss × oc. comp. 8.

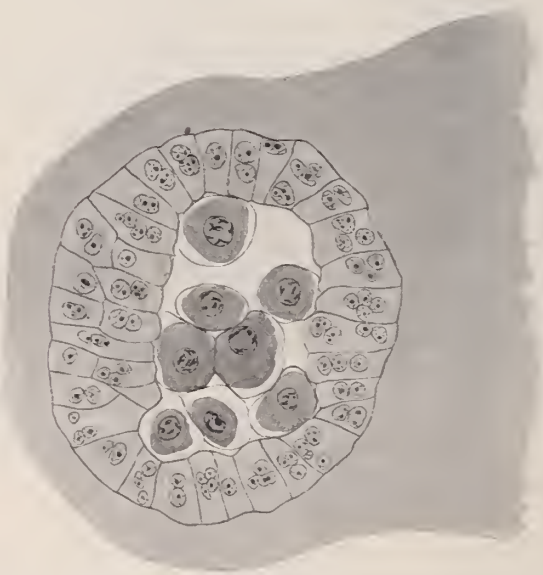
A ce moment l'assise nourricière est formée le plus souvent d'un seul plan cellulaire (figs. 5, 6)[1]). Ce n'est qu'en des points très localisés qu'elle est dédoublée parfois en deux couches (figs. 3, 4, 6, 7). Généralement son contour est très régulièrement circulaire ou ovale sur les sections perpendiculaires à l'axe longitudinal du sac pollinique. Cependant on peut y observer des trajets aberrants, tels que celui que la fig. 7 repré-

[1]) D'après Frye (1901), dans *Asclepias*, le tapetum comprend plusieurs assises de cellules. [Frye. Development of the pollen in some Asclepiadaceae. Bot. Gazette. 32. 1901.]

sente dans le *Fuchsia*. On voit que dans cette section l'assise nourricière émet, à la partie inférieure de la figure, une apophyse qui s'enfonce entre les cellules-mères définitives du pollen au stade synapsis; — et que, à la partie supérieure, une communication transversale est établie entre les deux faces opposées, isolant un microsporocyte. D'ailleurs cette cloison n'était pas complète, mais s'interrompait avant le fond de la loge, de manière à laisser communiquer la chambre qu'elle délimitait et la portion principale du sac pollinique.

Assez fréquemment, j'ai observé, dans le parcours de l'assise nourri-

Fig. 6.



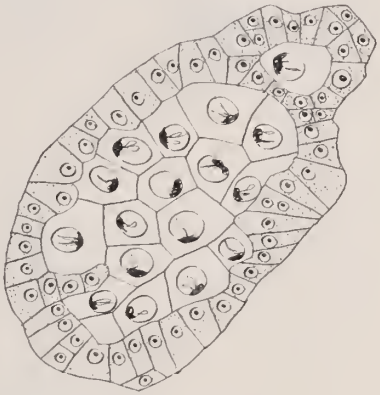
Fuchsia. Un sac pollinique à la diacinèse. Obj. apochr 3 mm imm. homog. Zeiss × oc. comp. 4.

cière, des anomalies analogues, consistant principalement en des apophyses, formées de une ou plusieurs cellules, qui s'enfonçaient comme des coins entre les sporocytes (*Helleborus*, *Hyoscyamus*, *Fuchsia*, *Atropa* en particulier). Ce sont là peut-être simplement des irrégularités dûes au pur hasard; mais on pourrait aussi songer à rapprocher ces aspects de certaines particularités qui sont la règle chez d'autres plantes, et qui fournissent une très grande surface de contact entre les cellules goniales et leur tissu nourricier. Ces particularités consistent parfois simplement en une forme de la masse sporogène qui lui procure une grande surface. C'est le cas dans les sporanges de *Lycopodium clavatum* et de *L. annotinum*,

et dans les microsporanges de beaucoup d'Angiospermes, où la masse des cellules sporogènes prend la forme d'un croissant (*Hyoscyamus*) (fig. 2).

Mais dans d'autres cas ces particularités sont plus remarquables. Pour m'en tenir aux Angiospermes, on connaît plusieurs espèces où le sac pollinique est divisé en loges secondaires par des cloisons de tissu stérile. En particulier, parmi les Onagrariacées, les sacs polliniques de *Circæa* possèdent 2 chambres, ceux de *Clarkia* 4 ou 5, ceux de *Gaura biennis* 6. Ces cloisons sont à rapprocher des trabécules stériles du sporange de *Isoëtes*. De même, dans *Viscum*, *Rhizophora*, etc., les cellules fertiles sont réparties dans les anthères par groupes isolés.

Fig. 7.



Fuchsia. Une anomalie dans la forme du tapetum. Obj. apochr. 8 mm. Zeiss × oc. comp. 8.

Les cellules-nourricières possèdent à ce moment des membranes cellulosiques bien développées, et chacune est donc parfaitement isolée de ses voisines.

Leur protoplasme possède une coloration très accentuée, et qui, fait remarquable, est toujours en rapport avec la couleur du pollen de l'espèce envisagée. Le pollen est le plus souvent jaune; le plasma des cellules-nourricières est aussi très généralement coloré en jaune. Mais, d'après Van Tieghem (1891), dans *Zygophyllum Fagabo*, sa teinte est rouge orangée; — violette dans *Anemone stellata*, rose dans *Knautia orientalis*, rouge brune dans le Poirier.

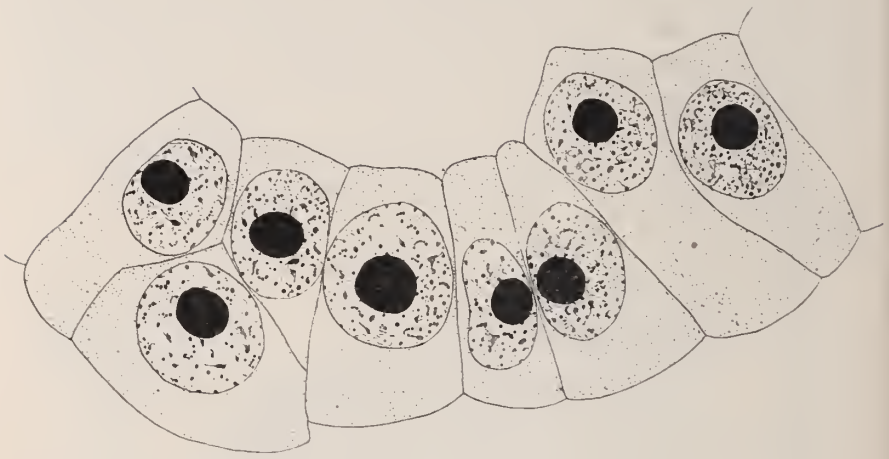
Ce protoplasme est d'autre part très granuleux, à tel point que même sur des coupes non colorées on peut par ce caractère reconnaître les cellules-tapètes, et retient déjà fortement les colorants basiques.

Les noyaux des cellules-nourricières possèdent une structure spéciale:

1. Dès le début de la différenciation, ces noyaux présentent des caractères particuliers. Ainsi, dans *Cobæa scandens*, les noyaux des cellules somatiques contiennent un seul nucléole; et, comme on peut le voir, sur la fig. 10a, les noyaux des cellules-mères primordiales n'en ont également qu'un, mais très volumineux. Quant aux cellules-nourricières, quoique très jeunes dans l'anthère en question, (l'assise mécanique n'y

est pas encore individualisée), leurs noyaux possèdent plusieurs nucléoles, de taille variable, mais formant une très abondante réserve de chromatine.

Fig. 8.



Fuchsia. Quelques cellules-tapètes adultes. Obj. apochr. 1 mm. 5 imm. homog. Zeiss × oc. comp. 12.

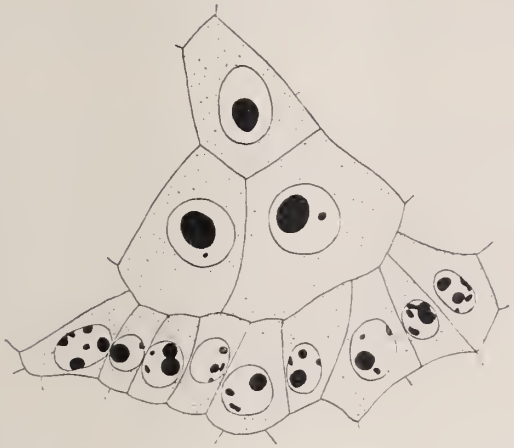
2. Quand les cellules-nourricières sont à l'état adulte, tel que je l'ai défini plus haut, leur noyau, dans toutes les plantes que j'ai étudiées,

Fig. 9.

Hemerocallis fulva. Fin de la différenciation du tapetum. Obj. apochr. 1 mm. 5 imm. homog. Zeiss × oc. comp. 4.

est très volumineux, et a une forme sphérique ou ovoïde parfaitement normale, et une structure assez différente de celle des noyaux des cellules des tissus ordinaires.

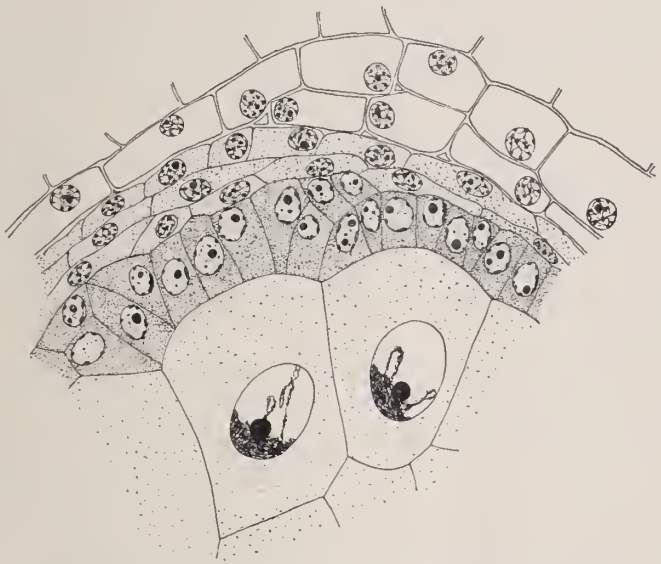
Fig. 10*a*.



Cobæa scandens. Le tapetum jeune (stade des cellules-mères primordiales).
Obj. apochr. 1 mm. 5 imm. homog. Zeiss × oc. comp. 4.

Dans le *Fuchsia* (fig. 8), ces noyaux sont remarquables parce que tous, sans exception, renferment un nucléole unique, mais énorme, sans

Fig. 10*b*.



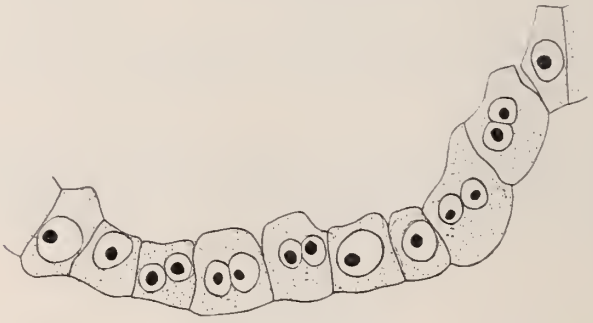
Cobæa scandens. Structure du tapetum au moment de la contraction synaptique.
Obj. apochr. 1 mm. 5 imm. homog. Zeiss × oc. comp. 4.

vacuoles, extrêmement basophile. Le reste de la cavité nucléaire ne possède pas de réseau chromatique formant un ruban bien défini, mais est parsemé de granules de chromatine de petite taille, et en général sphériques.

Dans la Belladone (fig. 11), les noyaux des cellules-nourricières possèdent aussi un nucléole volumineux.

Dans l'Hémérocalle (fig. 9), le nombre des nucléoles est plus variable, et leur forme plus irrégulière. Il en existe en moyenne 6 ou 7 dans chaque cellule, offrant d'ailleurs entre eux des différences de taille allant du simple au double. Ce nombre assez grand des nucléoles, leurs variations de dimensions et leurs irrégularités de forme paraissent d'ailleurs être

Fig. 11.



Atropa Belladona. Noyaux de diverses tailles dans les cellules nourricières. Obj. apochr. 1 mm. 5 imm. homog. Zeiss × oc. comp. 8.

générales dans les cellules de l'Hémérocalle. Les cellules-mères primordiales du pollen figurées dans la fig. 9 montrent des variations analogues. Il en est de même pour les cellules transitoires (partie supérieure de la fig. 9). La cavité nucléaire du noyau des cellules-tapètes de l'Hémérocalle est parcourue par un ruban chromatique irrégulier et n'offrant rien de particulier.

Dans *Cobœa scandens* (fig. 10b), les noyaux des cellules somatiques, et également ceux des cellules transitoires, ont un nucléole assez petit, et la cavité nucléaire est parsemée de granules chromatiques, de forme variable, reliés entre eux par des anastomoses grêles. Au contraire les noyaux des cellules tapètes possèdent un ou deux nucléoles plus volumineux, et leur cavité nucléaire est presque privée de chromatine, celle-ci formant de petites plaques accolées aux parois de la vésicule nucléaire, ou des granulations périphériques. Ceci est bien visible sur la fig. 10b.

Dans *Yucca gloriosa*, les noyaux-tapètes contiennent aussi un nombre variable de nucléoles sphériques, à peu près aussi gros les uns que les autres, et peu volumineux, et un ruban chromatique anastomosé et irrégulier.

Dans la Jusquiame, la structure des noyaux des cellules-nourricières est à peu près semblable à celle des noyaux des cellules somatiques ordinaires. Ces noyaux présentent un ou deux petits nucléoles; mais le point le plus remarquable de leur structure réside dans la présence, à la périphérie de la cavité nucléaire, sur un mince réseau trebéculaire polygonal, d'amas polyédriques de chromatine, répartis à des intervalles assez réguliers, à peu près égaux en volume, et sur la nature desquels je reviendrai plus tard. Cette structure se retrouve également dans les tissus de la plante, mais elle est plus nette dans le tapetum, à cause des dimensions plus considérables des noyaux et de la taille également plus grande des amas de chromatine.

Dans l'Hellébore, la structure des noyaux est à peu près la même que dans les cellules somatiques. Le noyau possède un ou deux volumineux nucléoles, et un reséau chromatique extrêmement serré.

En définitive, il semble que la structure des noyaux des cellules-nourricières soit caractérisée par la présence d'une grande quantité de chromatine. Celle-ci se condense souvent sous forme de volumineux nucléoles; la chromatine qui n'est pas sous forme nucléolaire constitue, soit des granulations très nombreuses, comme dans le *Fuchsia*, — soit un réseau serré.

Lorsque les cellules-nourricières sont dans cet état, les cellules-mères définitives du pollen sont formées, et sont, suivant les espèces envisagées, soit à des stades présynaptiques, soit à des stades postsynaptiques. La taille des cellules-tapètes est déjà en ce moment très considérable, et d'ailleurs assez variable suivant les plantes envisagées. Je donne ci-dessous quelques mesures, relatives: les unes à des cellules-tapètes uninucléées, — les autres à des microsporocytes au stade synapsis, — les dernières à des cellules méristématiques des jeunes ovules en voie d'accroissement intense. Les deux nombres relatifs à chaque cellule ou à chaque noyau indiquent en μ la longueur du grand diamètre et du diamètre perpendiculaire.

Fuchsia sp.

A. Cellules tapètes uninucléées.

Cellule		Noyau	
Grand diamètre	Petit diamètre	Grand diamètre	Petit diamètre
20,4	10,3	12	7,7
21,6	13,4	12,5	10,8
23	9,6	10,8	9,6
18	8,4	12	7,2
13,4	9,6	9,5	8,7
18,3	9,6	9,3	7,2
15,6	14	11,5	9,6
13,2	8,4	9,6	7,2
19,2	11,3	12,2	7,5
13,2	9,6	9,8	7,2
Moyennes		Moyennes	
17,7	10,5	11	8,3

B. Microsporocytes en synapsis.

Cellule		Noyau	
Grand diamètre	Petit diamètre	Grand diamètre	Petit diamètre
27,6	15,2	14,9	13,4
31,2	24	12,2	13,2
36	19,2	16,8	13,7
28,8	19,2	17,3	11,3
32,8	21,6	16,8	13,4
22,1	26,4	16,3	14,7
28,8	20,4	15,4	13,4
28,8	19,2	16,8	13,4
28,8	21,6	16,8	13,6
24	21,6	18,3	13,2
Moyennes		Moyennes	
29	21,9	16,1	13,9

C. Cellules méristématiques ovulaires.

Cellule		Noyau	
Grand diamètre	Petit diamètre	Grand diamètre	Petit diamètre
13,4	9,6	8,2	9,6
12	9,6	9,6	8,4
13,2	12	8,2	9,6
12	11	8,4	7
11,3	9,1	7,7	7
13,7	12	10	9,6
13,9	9,1	7,5	9,1
13	7,2	7	7
13,2	11,5	9,6	7
12	8,4	9,1	7
Moyennes		Moyennes	
12,8	10	8,5	8,1

Moyennes des moyennes des diamètres.

	Cellules	Noyaux
C.M. Pollen	25,5	15
Tapetum	14,1	9,6
Méristèmes	11.4	8,3

Atropa Belladona.

A. Cellules tapètes uninucléées.

Cellule		Noyau	
Grand diamètre	Petit diamètre	Grand diamètre	Petit diamètre
24	14,4	12	12
21,6	12	12	10,8
27,6	12	10,1	8,4
25,5	12	10,8	9,9
26,4	12	12,5	10,8
16,8	13,2	12	14,4
18	8,6	9,1	7,7
26,4	9,6	10,1	6,5
19,2	12	10,1	9,6
11,5	7,2	8,1	6,7
Moyennes		Moyennes	
21,7	11,3	10,7	9,7

B. Microsporocytes en synapsis.

Cellule		Noyau	
Grand diamètre	Petit diamètre	Grand diamètre	Petit diamètre
27,6	19,2	16,8	14,6
27,6	25,2	19,2	16,8
31,2	20,4	16,8	12,5
26,4	21,6	16,3	14,4
24	18	16,8	12,5
22,3	21,6	16,1	14,4
24	21,6	18	17
26,4	21,6	16,8	14,9
31,2	21,6	17,5	14,4
31,2	22,8	19,2	14,4
25,2	16,8	16,8	13,4
31,2	24	16,8	15,6
Moyennes		Moyennes	
27,3	21,2	17,3	14,5

C. Cellules méristématiques ovulaires.

Cellule		Noyau	
Grand diamètre	Petit diamètre	Grand diamètre	Petit diamètre
12,5	8,7	9,6	7,7
14,4	8,4	9,6	7,2
12	8,4	6,7	6,2
13,2	9,6	8,7	7,7
16,8	9,6	8,4	7,9
15,6	10,8	9,1	7
14,4	8,2	9,6	7
15,6	13,2	9,6	8,2
13,2	12	10,1	9,6
14,4	9,6	8,7	8,4
Moyennes		Moyennes	
14,2	9,85	9	7,7

Moyennes des moyennes des diamètres.

	Cellules	Noyaux
C.M. Pollen	24,25	15,9
Tapetum	16,5	10,2
Méristèmes	12	8,35

Les autres plantes que j'ai étudiées m'ont fourni des résultats de même sens, et tout à fait analogues.

Ces résultats montrent que, au point de vue morphologique, les cellules-nourricières occupent une position intermédiaire entre les cellules-mères définitives du pollen et les cellules méristématiques ordinaires, aussi bien par leur taille propre que par celle de leurs noyaux. Dans *Drosera rotundifolia*, d'après Rosenberg (1899), les nucléoles présentent aussi de tels rapports, étant plus volumineux que ceux des noyaux des cellules des parois de l'anthère, et moins que ceux des noyaux des sporocytes. Mais ce n'est pas là, on le voit, une règle générale, puisque, si

par exemple l'Hémérocalle la suit, le *Fuchsia* s'en écarte d'une manière extrêmement nette, ses cellules-tapètes possédant des nucléoles infiniment plus volumineux que n'importe quelle autre cellule.

3. La Sénilité.

Les cellules-nourricières ne conservent que très peu de temps l'état ci-dessus décrit. Très rapidement en effet il y apparaît des modifications remarquables, qui ne font que s'accentuer à mesure que l'évolution des cellules gouiales avance. Ces modifications sont de deux sortes: les unes ont trait aux noyaux, les autres au plasma et à la membrane. Je les étudierai en commençant par celles du noyau, qui sont les plus frappantes et les plus anciennement connues.

A) Les modifications nucléaires.

a) Les mitoses.

C'est un fait classique, et signalé dans tous les traités, que les cellules-nourricières deviennent de bonne heure pluriuucléées. De très nombreux auteurs ont signalé des aspects de ce genre: par exemple Guignard (1891) chez *Lilium martagon*, Koernicke (1896) dans *Triticum*, Mottier (1897) chez *Podophyllum*, Coulter (1898) chez *Ranunculus*, Rosenberg (1899) dans *Drosera rotundifolia*, Dop (1903) chez plusieurs Asclépiadacées, Servettaz (1909) dans *Eleagnus*, Lagerberg (1909) chez *Adoxa moschatellina*, Kundt (1911) dans le tapetum des microsporanges de *Salvinia natans*, etc., etc.

C'est à un moment assez variable, suivant les plantes, que le noyau des cellules-nourricières entre en division. C'est toujours durant la prophase de la division hétérotypique, mais à des moments assez divers: avant la contraction synaptique dans la Belladone et le *Yucca*, après elle dans *Fuchsia*, durant cette période dans *Drosera rotundifolia*, d'après Rosenberg (1909).

Cette première division semble se faire toujours par karyokinèse, comme plusieurs auteurs l'ont déjà observé: Rosenberg (1899) dans *Drosera rotundifolia*, Tischler (1908) dans *Mirabilis jalapa*, Winkler (1906) et Strasburger (1909) chez *Wickstrœmia indica*. Après un spirème tout à fait normal, les chromosomes, en nombre diploïde, s'ordonnent en une plaque équatoriale, dont la direction est assez variable. Le plus souvent (figs. 15a, 24), l'axe du fuseau est parallèle à la longueur de la cellule, et on peut considérer cette position comme normale, étant donnée la loi suivant laquelle se dispose le fuseau d'après la répartition du plasma

(loi de O. Hertwig). Mais les noyaux des cellules-nourricières sont, on l'a vu, très volumineux, et presque aussi larges que la cellule qui les contient; de sorte que, parfois, la métacinèse, n'ayant sans doute pas la place nécessaire à son développement dans le plan transversal, se dispose obliquement par rapport à l'axe longitudinal de la cellule (figs. 83a, 103), comme Němec (1910) l'a observé, et aussi pour des raisons d'étroitesse, dans les tubes laticifères des Euphorbiacées.

Même, dans des cellules particulièrement étroites, ce renversement peut être de 90°, et donner une plaque équatoriale parallèle à l'axe longitudinal de la cellule, telle que celle que la fig. 73 représente dans *Atropa Belladona*. On pourrait à première vue ne pas interpréter ainsi cette figure, et supposer que c'est là une cellule destinée à se diviser par une cloison radiale, et dans laquelle la position de la métacinèse serait par suite absolument normale. Mais je ne pense pas qu'il en soit ainsi, étant donné que cette figure a été empruntée à une anthère ayant de beaucoup dépassé le stade de la prophase hétérotypique, et dans laquelle par conséquent il y a bien peu de chances pour qu'il s'y produise encore des cloisonnements radiaux.

Fig. 12.

Fuchsia. Noyaux des cellules nourricières (synkaryons et noyaux diploïdes).
Obj. apochr. 1 mm. 5 imm. homog. Zeiss × oc. comp. 8.

Les fibres des fuseaux de ces figures karyokinétiques ne convergent pas, ou très peu; en général elles demeurent presque parallèles les unes aux autres, et se terminent dans le plasma après un trajet assez court (figs. 15a, 24, 73, 79). Ces fuseaux sont donc, suivant la nomenclature de Strasburger, des fuseaux diarches-apolaires. On connaît d'autres exemples de fuseaux de ce genre, quoiqu'ils ne soient pas très fréquents. Pour m'en tenir aux Angiospermes, Nemec (1899) en a signalé dans les racines d'*Allium cepa*, Rosenberg (1899) dans celles de *Drosera rotundifolia*, Juel (1900) dans les cellules-mères du pollen de *Carex acuta*, Němec

(1910) dans les mitoses hyperchromatiques des racines chloralisées de *Pisum sativum* et de *Vigna catjang*, quoique les fuseaux des mitoses normalement chromatiques y soient bipolaires.

Cette forme spéciale, imparfaite, pourrait-on dire, du fuseau, tient à mon avis aux dimensions très considérables des plaques métaphasiques par rapport à celles des cellules. Un fait que je considère comme une preuve en faveur de cette manière de voir est que j'ai observé des fuseaux analogues dans les archespores de *Cobæa scandens*, qui présentent également un très gros noyau par rapport à leur volume. La figure 114 en fournit un exemple. On y voit une métacinèse très volumineuse, extrêmement large, et ici encore les fibres fusoriales ne convergent pas. Et cependant, dans d'autres cellules absolument semblables, mais où les plaques équatoriales ont des dimensions plus faibles, se trouvent des fuseaux bipolaires normaux. De même, dans les cellules tapètes jeunes, dans lesquelles les noyaux ne sont pas encore trop volumineux, on trouve presque uniquement des fuseaux bipolaires (fig. 83 b). Rosenberg (1899) signale même que, dans *Drosera rotundifolia*, le fuseau est plus aigu (spitziger) que dans les mitoses végétatives. Mais l'examen des figures de l'auteur montre clairement qu'ici la taille des noyaux est relativement peu considérable, eu égard aux dimensions des cellules.

Fig. 13.

Fuchsia. Noyaux des cellules-nourricières. Obj. apochr. 3 mm. imm. homog. Zeiss × oc. comp. 18.

La même interprétation est justifiée d'une manière parfaite par les figures données par Juel, relatives au *Carex acuta* (figs. 31, 33, 34, 37, 40

de la planche XVI) (1900),—et par la figure 13 de la planche I de Rosenberg (1899), qui est tout à fait semblable à la fig. 73 du présent travail.

Ainsi donc, je crois qu'on ne peut pas mettre la forme apolaire des fuseaux au compte de quelque particularité physiologique, mais qu'elle est simplement dûe à la taille relative des figures karyokinétiques et des cellules qui les contiennent.

Fig. 14.

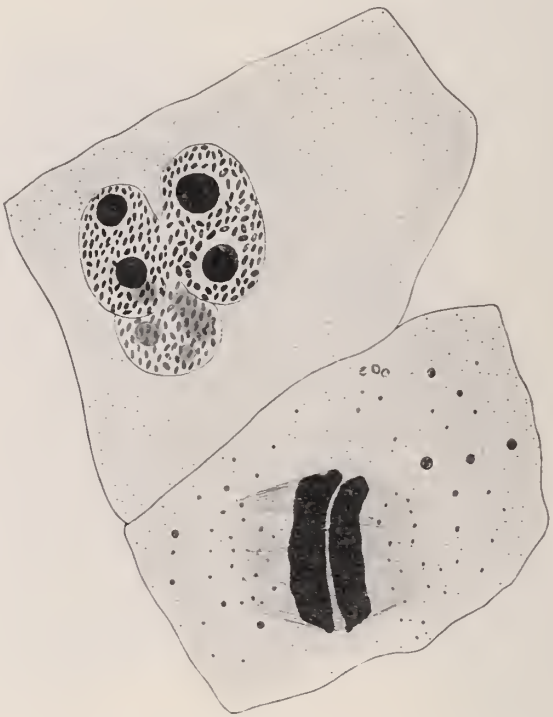
Hyoscyamus albus. Noyaux de tailles diverses dans les cellules-nourricières. Obj. apochr. 1 mm. 5 imm. homog. Zeiss × oc. comp. 12.

Un autre fait assez remarquable est que je n'ai jamais observé de fuseaux polyarches dans les cellules nourricières, quoique dans les divisions des microsporocytes, en particulier chez *Asphodelus albus*, ils soient très fréquents. De même, dans *Drosera rotundifolia*, d'après Rosenberg (1899), les fuseaux des mitoses, dans les cellules-nourricières, ne sont jamais multipolaires.

Les fibres fusoriales étant parallèles, les champs polaires sont extrêmement larges. On y constate souvent des agglomérations de plasma plus

dense, dans lesquelles semblent venir se terminer les filaments achromatiques (figs. 26, 27, 29, 31, 79); et, souvent, principalement dans certaines plantes (*Hemerocallis*, *Cobœa*, *Fuchsia*), ces champs polaires sont parsemés de nombreuses granulations, colorées en noir par la laque ferrique d'hématoxyline (figs. 15a, 26, 29).

Fig. 15*a*.



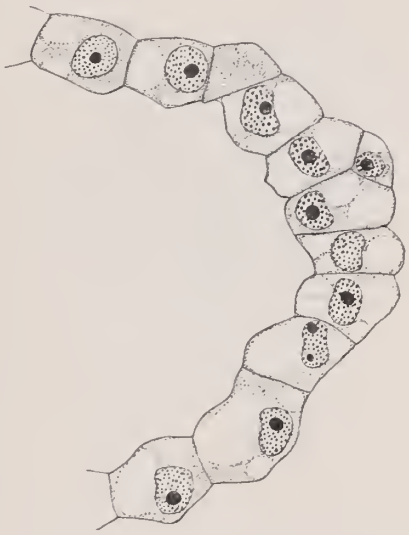
Atropa Belladona. Cinèse et Karyogamie. Obj. apochr. 1 mm. 5 imm. homog. Zeiss × oc. comp. 18.

Dans l'Hémérocalle et le *Fuchsia*, ces granulations n'offrent rien de bien particulier à signaler. Mais il n'en est pas de même dans *Cobœa*.

Anstruther A. Lawson (1898), dans son travail sur le développement du fuseau karyokinétique dans les cellules-mères du pollen de *Cobœa scandens*, dessine dans toutes ses figures de nombreuses granulations de ce genre. Il dit que dans la cellule vivante elles ont l'apparence de globules d'huile, et que, après fixation par le Flemming, elles deviennent noires. Il ne peut d'ailleurs rien avancer sur leur nature ni leur fonction. D'après l'auteur, ces granulations occuperaient dans les cellules-mères, au cours

de la karyokinèse, des positions bien déterminées. En effet, au début de la prophase, le cytoplasme présente une remarquable différenciation en deux couches: une couche interne, enveloppant le noyau, formée d'une substance granuleuse que l'auteur appelle le périkaryoplasme; — et une couche périphérique alvéolaire. Or les granulations noires s'ordonnent suivant une surface sphérique à la limite du périkaryoplasme et du cytoplasme alvéolaire, et sur des sections apparaissent donc comme disposées en cercle. Elles demeurent dans cette position durant tout le processus karyokinétique, et ce n'est qu'à la fin de la division qu'elles reprennent des positions irrégulières.

Fig. 15 *b*.



Atropa Belladona. Vacuolisation du plasma. Obj. apochr. 3 mm. imm. homog. Zeiss × oc. comp. 8

Je n'ai pas observé dans les cellules-nourricières une pareille répartition précise des corps noirs. Dans la figure 114, ils sont dispersés sans places de prédilection dans tout le corps cellulaire. Mais dans beaucoup de cas ils sont particulièrement nombreux dans les champs polaires; — et, dans les cellules-tapètes jeunes, lorsque les fuseaux sont bipolaires, on en voit parfois deux, situés chacun juste à une extrémité du fuseau, où ils ont exactement l'apparence d'un centrosome. Cependant il n'y a là qu'une apparence, d'abord parce que cet aspect n'est pas constant, et puis parce que souvent cette granulation centrosomiforme ne s'observe qu'à une seule extrémité du fuseau, comme la figure 83b en fournit un exemple, et que des granulations semblables apparaissent dispersées dans toute la cellule. Il n'y a donc là qu'un hasard de position. D'ailleurs il résulte des études approfondies de Lawson que le *Cobœa* ne possède pas de centrosomes.

Ces corps ne sont pas d'ailleurs spéciaux aux cellules goniales et aux cellules nourricières, mais se retrouvent en abondance dans les cellules somatiques, et là encore je n'y ai jamais observé de dispositions analogues à celles que signale Lawson dans les microsporocytes.

Il me paraît peu probable que ces corps soient des gouttelettes d'huile,

comme Lawson le suggère. Je pense qu'il faut y voir des nucléoles extranucléaires. En effet, s'ils étaient des globules de corps gras, comment expliquer leur position si élective dans les cellules-mères du pollen en voie de mitose?

La plaque équatoriale se scinde, comme normalement, par division longitudinale des chromosomes, en deux plaques anaphasiques, qui émigrent vers les champs polaires, et là se reconstituent en deux noyaux. Rosenberg (1899) signale que dans *Drosera* les deux noyaux-filles sont souvent très larges et très aplatis. Dans les espèces que j'ai étudiées, leur forme m'a paru être absolument normale, sphérique ou elliptique, sauf dans un cas: lorsque la métacinèse a dans la cellule une position oblique, les plaques télophasiques sont également obliques, et les noyaux peuvent avoir une forme plus ou moins irrégulière. Il en est de même lorsque les métacinèses ont leur diamètre disposé suivant la longueur de la cellule. Les plaques anaphasiques sont alors très aplaties dans le sens tangentiel. Aux dépens de la mitose représentée par la fig. 65 par exemple auraient pris naissance vraisemblablement deux noyaux discoïdes. Němec (1910) a observé des apparences analogues dans les racines chloralisées du Pois.

Fig. 16.

Hyoscyamus albus. Structure des noyaux des cellules-nourricières.
Obj. apochr. mm. 5 imm. homog. Zeiss × oc. comp. 12.

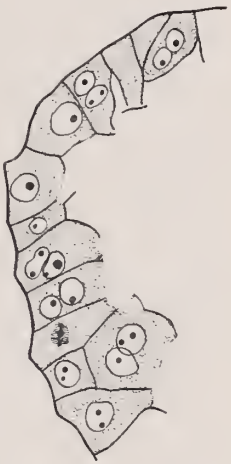
Il ne se forme pas entre les deux noyaux-fils, à l'équateur du fuseau, de membrane cellulosique; par conséquent les deux noyaux demeurent contenus dans la même cellule; la cellule-nourricière, de uninucléée, devient binucléée, — de monoénergide, biénergide. On voit de pareilles cellules binucléées sur les figures 5, 6, 11 par exemple.

Cette absence de formation de membrane n'est peut-être pas absolument générale chez les Angiospermes. En effet Rosenberg (1899) a observé dans quelques cas, chez *Drosera*, très rarement il est vrai, qu'il apparaît à l'équateur du phragmoplaste une vague indication de membrane cellulaire. Gates (1906) a aussi rencontré dans *Œnothera lata* des

exemples d'une pareille formation de membrane, mais «comparatively rare» (p. 86), et Tischler (1906a) dit que, assez fréquemment, dans *Ribes intermedium*, il se différencie une paroi transversale, de sorte que à cet endroit le tapetum est désormais dissocié en deux assises de cellules. — En tout cas, je n'ai jamais observé d'apparences de ce genre, pas plus que Strasburger (1909) dans *Wickstræmia*.

Je rapprocherai de ces apparences celles qui ont été observées par Kemp (1910) dans les racines chloralisées de *Galtonia candicans*: il ne s'y forme que rarement une membrane entre les deux noyaux issus des mitoses effectuées durant la chloralisation, et encore sont-elles souvent incomplètes.

Fig. 17.



Atropa Belladona. Dislocation des membranes cellulosiques. Obj. apochr. 1 mm. 5 imm. homog. Zeiss × Oc. comp. 4.

On ne sait pas grand'chose sur les causes de cette non-formation de la membrane. On connaît chez les plantes supérieures quelques cas non pathologiques de divisions nucléaires non suivies de la division des cellules: par exemple dans les laticifères, dans les cellules plurinucléées des Dioscoréacées et des Euphorbiacées, dans les grains de pollen et les tubes polliniques de *Araucaria Bidwillii* (Lopriore 1905), dans les sacs embryonnaires, etc. Küster (1908) a émis à ce sujet deux hypothèses:

1. Ou bien on peut admettre que les cellules en question ont perdu une fois pour toutes, et définitivement, le pouvoir de former des membranes; —

2. ou bien ces cellules l'ont perdu seulement momentanément, par suite de conditions internes défavorables.

Les cellules-tapètes, comme le montrent les apparences observées par Rosenberg, Gates, Tischler, etc., rentrent dans la deuxième catégorie, de même que les sacs embryonnaires et que beaucoup de cellules attaquées par des parasites.

Quelle est l'évolution ultérieure des ces deux noyaux qui sont dès lors contenus dans chaque cellule-nourricière?

Rosenberg (1899) pense qu'elle varie suivant la forme que ces noyaux ont prise à la télophase. D'après lui, lorsqu'ils sont sphériques, — c'est à-dire d'apparence normale —, ils se reproduisent à nouveau par voie karyokinétique; — mais, quand ils sont aplatis ou réniformes, ils se divise-

raient par amitose, en prenant la forme d'une haltère, qui se scinde suivant le milieu par étirement et étranglement. De telle sorte que, en fin de compte, quel que soit le processus de division, chaque cellule-tapète contient quatre noyaux.

Dans tous les cas que j'ai étudiés, la division de ces deux noyaux m'a paru se faire toujours par mitose. J'ai bien rencontré des apparences analogues à celles que dessine Rosenberg, mais je crois qu'on peut les interpréter différemment, et je réserverai leur étude pour plus tard, m'en tenant pour le moment aux phénomènes karyokynétiques.

Un fait très remarquable est que les deux noyaux se divisent simultanément, avec un synchronisme parfait. Winkler (1906) et Strasburger (1909) ont aussi observé ce parallélisme dans *Wickstrœmia indica*, et il était tellement absolu que Winkler pense même que dans une cellule-tapète de cette plante un seul stade de la mitose peut être réalisé à un instant donné. Il en est de même dans *Œnothera lata*, d'après Gates (1907).

Les figures 18 montrent dans le *Fuchsia* les divers stades de ces mitoses conjuguées. On voit les deux noyaux entrer simultanément en spirème (fig. 18a): dans l'un d'eux les diverses branches épaissies et régulières du filament chromatique viennent se terminer dans le nucléole. En 18b les deux plaques métaphasiques sont formées. Dans la figure 18c les deux noyaux sont à l'anaphase; et en 18d les quatre noyaux-fils sont en voie de reconstruction.

Ces mitoses conjuguées se retrouvent dans le *Yucca* (figs. 19, 20, 66), la Jusquiame, la Belladone, etc.

La position des deux figures cinétiques l'une par rapport à l'autre est d'ailleurs sujette à des variations. Le plus souvent elles sont situées suivant la longueur de la cellule, et leurs axes sont à peu près dans le prolongement l'un de l'autre (figs. 18, 19, 66). Dans ce cas, d'une manière très générale, les deux mitoses occupent par rapport à la longueur de la cellule des positions nettement déterminées, de telle manière que le centre de la cellule se trouve à peu près à moitié distance entre les deux métacineses. Lorsque la cellule est plus mince à une extrémité qu'à l'autre, la mitose située vers cette extrémité amincie se rapproche du bout opposé, c'est-à-dire du point où il y a la plus grande quantité de plasma. C'est nettement visible sur la fig. 18d. Cependant cette loi, si elle est très générale, n'est peut-être pas absolue; la figure 66 par exemple montre un cas où elle semble être en défaut. Mais il faut ici cependant remarquer que la moitié de la cellule où ne sont pas situées les karyokinèses était très alvéolisée et assez peu riche en plasma.

Nemec (1910), qui a à ce sujet effectué de nombreuses mesures micrométriques dans les cellules plurinucléées des racines des Euphorbiacées (*Ricinus*), où les noyaux se divisent aussi synchroniquement, arrive à cette conclusion que, en général, dans les cellules binucléées, la distance entre les deux figures mitotiques croît avec la longueur de la cellule, non pas d'une manière exactement proportionnelle, mais cependant très nette. Il a de même observé, ce qui est pleinement valable pour les cellules-tapètes, que les deux mitoses ne tendent pas à être aussi éloignées que possible l'une de l'autre, mais qu'il existe entre les extrémités de la cellule et les mitoses une distance appréciable, qui, dans les cellules contenant deux mitoses conjuguées, est en général plus faible, rarement plus considérable, que celle qui sépare les deux figures.

Mais les axes des deux mitoses ne sont pas nécessairement ainsi disposés dans le prolongement direct l'un de l'autre. Dans la figure 20 ils présentent l'un sur l'autre une inclinaison appréciable. Dans la figure 21 ils sont parallèles; dans la figure 22, qui se rapporte au *Yucca*, ils sont perpendiculaires; il en est de même dans la figure 23, relative à la Belladone.

On peut faire au sujet des fuseaux de toutes ces figures karyokinétiques conjuguées les mêmes remarques qu'à propos de ceux de la première mitose du noyau de chaque cellule nourricière. Ce sont des fuseaux apolaires-diarches, et pour la même raison certainement. C'est bien visible sur toutes les figures.

Ces deux fuseaux restent dans la plupart des cas entièrement indépendants l'un de l'autre, de sorte qu'il n'y a pas mélange entre les deux figures mitotiques. Cette loi n'est pas il est vrai absolue, et nous étudierons plus tard les exceptions qu'elle souffre.

Au cours de ces mitoses, apparaissent encore dans le plasma des granulations noires, bien visibles par ex. dans la fig. 23 (Belladone). On voit qu'elles sont plus particulièrement placées aux extrémités des fibres fusoriales.

Il importe de signaler la similitude absolue de toutes ces figures mitotiques avec celles que Němec (1904) a observées dans les cellules binucléées des sommets des racines chloralisées de *Pisum sativum*, et Kemp (1910) dans celles de *Galtonia candicans*. Němec a lui aussi observé des positions régulières des mitoses par rapport à la répartition du plasma; lui aussi a constaté diverses positions des deux cinèses l'une par rapport à l'autre: l'analogie que présentent par exemple respectivement les figures109, 114, 107, 116, 120 de son mémoire (1904) avec les figures 18c, 18b, 20, 21, 18d du mien est absolue.

Un point sur lequel j'insiste est que les quatre noyaux de chaque cellule-nourricière me paraissent se former toujours par mitose. Et cette manière de voir, partagée par Winkler (1906) et Strasburger (1909), va directement à l'encontre de celle de Juel (1900), qui (p. 648) déclare que les quatre noyaux qu'il a observés régulièrement dans les cellules-tapètes de *Syringa rothomagensis* se sont produits »ohne Zweifel durch direkte Kernteilungen, denn ich habe in denselben keine Kernspindeln beobachtet.« On trouvera peut-être peu convaincant cet argument, car jamais une raison négative n'a entraîné la conviction d'un fait positif. D'ailleurs Juel ne dit pas avoir observé de phénomènes d'amitose; — et il paraît conclure très naturellement de ce double fait que les cellules-tapètes possèdent à un moment donné 4 noyaux et qu'il n'y a jamais décelé de mitoses que ces 4 noyaux naissent par division directe. La conclusion dépasse peut-être la portée des prémisses.

J'insiste encore sur ce fait que ces mitoses conjuguées sont d'une généralité absolue; jamais je n'ai observé de cellules-nourricières contenant 2 noyaux dont l'un fut au repos et l'autre en division; ou bien les deux noyaux sont tous deux à l'état quiescent, ou bien ils sont tous deux en voie de karyokinèse, et, en ce qui concerne les différents stades de celle-ci, le synchronisme est toujours parfait: jamais l'un des noyaux n'est au stade métaphase alors que le deuxième est encore en prophase; mais les processus marchent exactement avec la même vitesse à l'intérieur des deux vésicules nucléaires, et plus tard dans les deux figures mitotiques, et ce synchronisme se poursuit avec la même perfection jusqu'à ce que les quatre noyaux de 3e génération F_3 soient entièrement retournés à l'état quiescent.

Ainsi donc prennent naissance des cellules quadriénergides, comme on peut en voir quelques-unes sur la figure 6, — relative au *Fuchsia*.

Les quatre noyaux de chaque cellule-tapète ne me paraissent plus se diviser mitotiquement. En effet je n'ai jamais observé 4 cinèses conjuguées, ni de cellule dans laquelle existassent par ex. 2 noyaux au repos et 2 en voie de division; — d'ailleurs cette apparence ne doit certainement jamais se réaliser, par suite du synchronisme mitotique. Par conséquent jamais 8 noyaux ne doivent naître par mitoses conjuguées dans une cellule-tapète. Je signalerai une seule exception à cette loi. Elle est visible sur la figure 12: on voit que, dans l'une des deux cellules qui possèdent 4 noyaux, ceux-ci ont leur réseau chromatique segmenté en chromosomes, quoique les nucléoles y existent encore. Or ce n'est évidemment point là une télophase, car jamais au cours de celles-ci les chromosomes ne

sont aussi indépendants les uns des autres. On ne peut donc interpréter cet aspect que comme une prophase. Il semble donc que ces 4 noyaux dussent se diviser karyokinétiquement.

Cependant il se peut que même ces noyaux ne se fussent pas ultérieurement divisés, et que les cinèses eussent avorté dès la prophase. Beer (1905), étudiant les cellules-tapètes de *Œnothera biennis* et *Œ. longiflora* à un moment où la première paroi du pollen est formée, observe en effet des noyaux en prophase, mais ne réussit jamais à trouver les stades ultérieurs de la division, et il ajoute: "I believe that mitosis is no longer completed by the nuclei." Il en est peut-être de même chez le *Fuchsia*, dans les cas analogues à celui que j'ai signalé.

Cependant ce n'est pas là peut-être une règle générale, car Mottier (1897) dit que, chez *Podophyllum*, »oft enthielt eine einzige Zelle zwei oder drei, selbst noch mehr Kerne, die sich gleichzeitig teilen konnten« (p. 36). L'expression n'est pas très précise, mais semble impliquer l'existence de mitoses conjuguées lorsque les cellules contiennent plus de deux noyaux.

Nous venons de voir comment prenaient naissance quatre noyaux dans chaque cellule-nourricière. Les processus décrits ci-dessus sont entièrement normaux, les mitoses étant de tous points conformes aux mitoses somatiques ordinaires, et ne présentant dans leur mécanisme intime rien de particulier.

Mais il n'en est pas toujours ainsi, et souvent on observe des mitoses aberrantes, très remarquables à divers points de vue, et que je vais maintenant examiner.

Quelques auteurs ont déjà signalé l'existence de mitoses anormales dans les cellules-tapètes: Mottier (1897), dit en avoir observé chez *Podophyllum* d'»eigentümliche und unregelmäßige« (p. 36). Rosenberg (1899) en signale aussi dans le *Drosera*.

C'est principalement dans le *Fuchsia* que j'ai observé les mitoses anormales, et j'en ai figuré quelques-unes.

Dans la figure 27, on voit quelques chromosomes épars au milieu des fibres fusoriales, entre les deux asters. Peut-être ont-ils été entraînés par le rasoir, peut-être non; et, dans ce cas, si telle est bien la position qu'ils occupaient avant la fixation, il y a là une anomalie comparable à celle que Juel a signalé, au cours des divisions allotypiques, dans la microsporogénèse de *Hemerocallis fulva*, de Lary de Latour (1908) chez *Agave attenuata*, Beer (1907) dans *Fuchsia* sp., Rosenberg (1904) dans la microsporogénèse de *Drosera rotundifolia* × *longifolia*, Tischler (1906 b)

dans un hybride de Bryone, et (1908) dans *Potentilla Tabernæmontani*, etc.

Mais, quoique cette sorte d'anomalie m'ait paru assez fréquente, je ne puis pas indiquer le sort ultérieur de ces chromosomes, et s'ils donnent, comme dans l'Hémérocalle, la Bryone, etc., de petits noyaux hypochromatiques.

Les figures 28 et 29, encore relatives au *Fuchsia*, montrent deux plaques anaphasiques reliées par un ou deux chromosomes. Cette anomalie, qui tient à ce que, à l'anaphase, deux chromosomes-fils ne se séparent point entièrement, explique le mode de formation des noyaux en forme d'haltére. Lorsqu'en effet ces chromosomes unis par une extrémité ne parviennent pas à se désunir, et que la reconstitution nucléaire s'effectue, il se forme une membrane tout autour de la traînée chromatique qui les réunit, et on obtient une vésicule en forme de sablier, telle que celle que représente la figure 30a (pseudoamitoses).

Cette anomalie paraît d'ailleurs être assez fréquente dans les tissus végétaux. Dans son travail de 1904, sur les modifications cytologiques amenées par l'action de l'hydrate de chloral dans les méristèmes des racines, Nemec signale, dans *Vicia Faba*, *Pisum sativum* et *Allium cepa*, des irrégularités cinétiques absolument semblables, de même que Kemp (1910) dans les racines chloralisées de *Vicia Faba* et de *Galtonia candicans*. Nemec (1910) a encore observé des apparences analogues dans l'endosperme de *Secale cereale*, Dixon (1896) dans celui de *Fritillaria imperialis*, et Buscalioni (1898) les signale comme particulièrement fréquentes dans l'albumen de la Fève, où ces »cromosomi in ritardo« donnent aussi naissance à des noyaux en forme d'haltère. (Fig. 63 de la planche XVI de l'auteur.)

Un cas particulièrement remarquable de cette forme en haltère des noyaux est représenté par la figure 60. On y voit deux noyaux réunis par une traînée de chromatine qui prend dans chacun d'eux une large insertion et semble dans l'intervalle qui sépare les deux membranes nucléaires être au contact direct du plasma. Ce n'était sans doute là qu'une apparence, et sur toute l'étendue de ce boyau de chromatine il devait exister une membrane, mais si intimément accolée à lui que je n'ai pu la déceler.

Dans la figure 31, il existe encore des traînées chromatiques réunissant les deux tassements polaires, mais ici, tandis que dans les figures 28 et 29 un ou deux chromosomes seulement établissaient la communication, il en existe plusieurs. De sorte que la reconstitution de la membrane donnera encore une vésicule nucléaire en forme de biscuit, mais beaucoup

moins étranglée au milieu que dans les cas précédents. Il en aurait été de même pour la mitose représentée par la fig. 26, où les deux plaques anaphasiques sont étroitement intriquées sur le côté droit. Kemp (1910) a observé de tels noyaux, et qu'il rapporte aux mêmes causes, dans les racines chloralisées de *Galtonia candicans*.

Dans la figure 30b, les extrémités de certains chromosomes-fils, quoique étant très près les unes des autres, ne sont pas absolument au contact, de sorte qu'il se peut que de cette cinèse fussent issus comme normalement deux noyaux. La fig. 25, diaster dans lequel les deux plaques anaphasiques sont très rapprochées l'une de l'autre sur un des côtés de la section, représente sans doute un stade ultérieur d'une telle mitose. Mais si toutefois les chromosomes attardés, tout en parvenant à se séparer entièrement, de manière à permettre la formation de deux vésicules nucléaires indépendantes, subissent cependant un retard dans leur marche, il se formera deux noyaux avec chacun un bec dirigé suivant l'axe du fuseau, tels que ceux que Tischler (1908) a décrits, à la suite d'irrégularités analogues, dans la microsporogénèse de *Syringa chinensis* (fig. 94 de l'auteur).

Dans la figure 32, toujours relative au *Fuchsia*, il y a deux communications entre les plaques diastériennes, et de plus, fait remarquable, celles-ci ont une forme annulaire, le centre de l'anneau étant dépourvu de chromosomes. Ceci est particulièrement visible pour la plaque inférieure. Peut-être aux dépens de telles mitoses se différencie-t-il des noyaux annulaires (voir Henneguy 1896, p. 396).

La fig. 33 pourrait à première vue être considérée comme représentant la section perpendiculaire à l'axe d'un tel tassement polaire en forme d'anneau. Mais l'existence dans la partie centrale, à peu près dépourvue de chromosomes, de cet anneau, de fibres achromatiques bien développées, et la polarité très nette que montre cette figure quant à la répartition des chromosomes, prouvent qu'elle représente un début d'anaphase. Celle-ci est très anormale, puisque les fibres fusoriales ne sont développées qu'au centre de la figure, et que sur les côtés il y a une continuité largement assurée entre les deux plaques polaires. Dans l'espace cette figure avait donc une forme cylindrique, les chromosomes étant plus particulièrement accumulés sur les deux faces planes du cylindre, mais revêtant aussi sans interruption toute sa paroi courbe, — et d'autres, plus rares, étant disséminés à son intérieur. Woycicki (1906) a observé des mitoses analogues dans les cellules-mères du pollen de *Larix dahurica* soumises à l'action de l'éther.

Je me demande fort à quelle conclusion aboutissent de pareilles cinèses, assez fréquentes dans le *Fuchsia*. Il paraît impossible qu'il se différencie à partir d'elles deux noyaux nettement individualisés, étant donnée la présence d'une couche de chromosomes sur toute la périphérie de la figure. Il me semble probable que de telles cinèses sont destinées à avorter, par le fait qu'il ne se forme autour d'elles qu'une seule membrane, et que par conséquent elles ramènent finalement à l'état initial uninucléé.

Ces anomalies ne se présentaient pas exclusivement au cours de la première mitose, mais également lors des mitoses conjuguées des deux noyaux qui en sont issus. Et dans ce cas les deux mitoses étaient toujours anormales toutes les deux. Je n'ai jamais observé de cas où une des deux cinèses fut entachée de quelque irrégularité, et point l'autre. Comme nous le verrons plus loin, ce fait est important au sujet de la nature des causes premières de ces anomalies.

Les figures 34 et 35 montrent deux exemples de ces mitoses conjuguées anormales, analognes par leur aspect à la figure 33. D'ailleurs l'anomalie des mitoses conjuguées pouvait également tenir à des filaments chromatiques réunissant les deux plaques polaires, comme dans le cas des figures 28 et 29.

Ces anomalies sont certainement dûes à ce que le mouvement des chromosomes vers les pôles devient irrégulier, et finalement est arrêté. Et cette inhibition se fait sentir d'ordinaire plus particulièrement en certains points de la figure, de sorte que les irrégularités sont localisées. Cependant dans certains cas c'est une influence générale qui s'exerce sur toute l'étendue de la cinèse, et alors prennent naissance des mitoses comme celles que représentent les figures 33, 34 et 35.

Mais à quoi est dû cet arrêt dans le mouvement des chromosomes? Němec le met au compte d'une dégénérescence partielle des fibres du fuseau achromatique. Et en effet Němec (1904) et Kemp (1910) ont observé que, sous l'action du chloral, les filaments achromatiques dégénèrent. Ils deviennent d'abord granuleux; Němec (1904) a pu suivre les étapes de cette transformation. Puis à leurs dépens il se forme des amas de plasma grenu. On trouve alors des fuseaux dont une extrémité demeure intacte, l'autre étant transformée en une masse plasmatique amorphe. En dehors du chloral, divers agents seraient capables d'amener cette dégénérescence du fuseau: variations subites et extrêmes de la température, vapeurs de chloroforme, plasmolyse, vapeurs de benzine, etc. Plus tard les masses de plasma homogène ainsi issues de la dégénérescence du fuseau seraient dissoutes et disparaîtraient, dans les racines chloralisées,

— tandis que, dans les racines plasmolysées de *Vicia Faba*, il se forme à leurs dépens des corps sphériques, analogues à des nucléoles (nucléoles extranucléaires) situés à la place du fuseau. Cette dégénérescence d'ailleurs pourrait être amenée, soit par l'action directe du chloral, soit, comme le pense Kemp (1910) par »a modification of the chemico-physical relations normally existing between chromatin and cytoplasm" (p.786). D'ailleurs sans influences externes ces phénomènes pourraient dans certains cas se produire, car Němec (1910) a observé parfois une pareille dégénérescence des fibres fusoriales dans l'endosperme de *Secale cereale.*

Y a-t-il entre l'arrêt du mouvement des chromosomes et la désagrégation du fuseau un rapport de causalité? En d'autres termes, les filaments achromatiques seraient-ils réellement des fibres contractiles qui tireraient à elles, vers les deux pôles, les chromosomes qui y sont fixés? Ou bien faut-il voir dans l'apparition du fuseau achromatique un symptôme des processus qui amènent la mobilité des chromosomes, sans que cependant ce soit le fuseau qui commande à ces mouvements?

Il semble bien certain que ce ne sont pas les fibres du fuseau qui causent les mouvements des chromosomes, car par exemple, chez de nombreuses Dicotylédones, les nucléoles, au moins durant la métaphase, se meuvent aussi, comme plus tard le feront les chromosomes, et sans être en relation avec les filaments du fuseau. De plus d'autres corps encore se déplacent vers les pôles de la figure mitotique, en particulier très souvent les amyloplastes, qui eux non plus ne sont pas en relations avec le fuseau.

Par conséquent il existe dans la cellule en voie de mitose certains facteurs qui, dans les conditions ordinaires, amènent des mouvements de certains constituants cellulaires vers les pôles de la figure; — et, fait remarquable, ces mouvements sont en relation chronologique avec la présence d'un fuseau.

Les apparences que m'ont présentées les cellules tapètes me semblent encore venir à l'appui de cette idée que ce ne sont pas les fibres fusoriales qui causent les mouvements des chromosomes, mais que la mobilité de ceux-ci et l'existence du fuseau ne sont que deux phénomènes coexistants, et non pas unis par un rapport de cause à effet. Dans toutes les figures anormales que j'ai observées en effet, les fibres fusoriales étaient toujours nettement développées, et n'offraient pas de signes de désintégration; jamais je n'en ai vu qui fussent granuleuses, comme celles qu'a étudiées Němec, et à plus forte raison n'ai-je jamais trouvé d'amas plasmatiques grenus ou de nucléoles extranucléaires provenant de la destruction partielle ou totale du fuseau achromatique.

Dans toutes les cinèses, les fibres fusoriales étaient donc normalement développées, et cependant ces mitoses étaient irrégulières, ce que Woycicki (1906) a également observé au cours de ses recherches sur l'action de l'éther sur les cellules-mères du pollen de *Larix dahurica*, et Max Koernicke (1905) dans les cellules des racines de *Vicia Faba* et de *Pisum* soumises à l'action des rayons X ou des émanations de radium. Par conséquent c'est ailleurs qu'il faut chercher les causes de l'arrêt du mouvement des chromosomes.

Fischer (1899) a émis l'hypothèse que la croissance générale du plasma pourrait suffire pour écarter les uns des autres les chromosomes, durant la mitose. Mais, comme le fait remarquer Nemec, cette explication, si elle peut être vraie dans certains cas, n'a certainement pas une signification générale, et une preuve en est fournie par les mitoses conjuguées dont j'ai parlé plus haut. En effet j'ai dit que les axes des deux cinèses n'avaient pas toujours la même direction, mais pouvaient faire entre eux un angle plus ou moins accusé. Il faudrait donc admettre ici une direction de croissance maxima du protoplasme différente suivant les parties de la cellule que l'on envisage, et ceci paraît bien difficile.

L'existence de mitoses conjuguées toutes deux anormales, et le fait que, dans tous les cas que j'ai observés, lorsque une des deux mitoses est irrégulière, l'autre l'est aussi, me semble indiquer qu'il faut chercher ailleurs la cause déterminante de cet arrêt dans le mouvement des chromosomes. C'est soit dans ceux-ci, soit dans le plasma ambiant. Il se peut que les chromosomes possèdent une faculté automotrice qui s'exerce librement dans la cellule normale, mais qui est inhibée à des degrés divers dans les cellules placées dans des conditions plus ou moins pathologiques, comme c'est le cas pour les cellules-tapètes ou pour les cellules des méristèmes traités par divers agents chimiques ou physiques.

Il se peut encore, ce qui est plus probable, que les mouvements des chromosomes et les particularités si remarquables de la karyokinèse soient le résultat d'un ensemble de conditions mécaniques, physiques et chimiques réalisées dans le plasma, et que, lorsque quelques-unes de ces conditions ne sont pas remplies, certains rouages du mécanisme soient faussés, de sorte que le processus mitotique ne se termine plus suivant la marche normale.

Je signalerai encore ici une cinèse multipolaire, d'ailleurs unique en son genre, que j'ai observée dans le *Yucca*. La figure 36 a, b, c représente 3 coupes optiques successives de cette mitose. C'est une anaphase; les chromosomes sont répartis en quatre amas, situés à peu près aux

sommets d'un carré, et qui sont réunis deux à deux, de toutes les manières possibles, par des fibres fusoriales. Cette mitose est d'ailleurs anormale à un autre point de vue: on voit en effet sur la fig. 36a que deux amas chromatiques opposés sont réunis par une mince traînée chromatique.

Cette mitose étant la seule de son genre que j'ai observée, je ne puis indiquer ni la manière dont elle s'est constituée, ni son évolution ultérieure. Cependant il est permis de penser que de telles cinèses peuvent naître aux dépens des noyaux en forme d'haltère dont j'ai expliqué plus haut le mode d'élaboration. Si en effet un tel noyau se divise mitotiquement, et qu'il ne survienne pas de régularisation dans la forme du monaster ou de la métacinèse, il se séparera à l'anaphase non par deux, mais quatre plaques-filles peut-on dire, qui peuvent encore être réunies par des filaments chromatiques, vestiges de ceux qui existaient dans le noyau quiescent, comme dans la figure 36a; — et le fait qu'il se différencierait alors entre ces quatre tassements polaires des fuseaux de fibres les reliant deux à deux de toutes les manières possibles, — comme dans la fig. 36 —, ne serait pas plus étrange que de voir, — cas très fréquent —, de telles apparences se réaliser, lors de la cinèse homéotypique, entre les quatre noyaux d'une même tétrade (Verbindungsfasern).

On connaît chez les Végétaux, et dans les tissus normaux, de nombreux exemples de pareilles mitoses. Mais j'en rapprocherai, comme particulièrement intéressantes, au point de vue des causes communes qui ont peut-être amené les deux apparences, les mitoses multipolaires que Lécaillon (1910) a observées en grand nombre dans les œufs parthénogénétiques en voie de dégénérescence de la Poule (figs. 38, 41). Wilson (1901) a également observé dans l'œuf parthénogénétique de *Toxopneustes* (figs. 32, 36, 37, etc.), — Kostanecki (1909) dans celui de *Mactra* (fig. 34), des aspects tout à fait semblables, de même que nombre d'autres auteurs dans des cas analogues.

C'est ainsi que marchent les phénomènes dans toutes les plantes que j'ai étudiées, sauf *Helleborus viridis*. Ainsi donc, dans toutes ces espèces, chaque cellule-nourricière devient quadrinucléée. Mais ce n'est pas dans toutes les Angiospermes que les cellules-tapètes en viennent à posséder quatre noyaux. Ainsi Merrell (1900) chez *Silphium*, Lagerberg (1909) chez *Adoxa moschatellina*, Beer (1911) chez *Ipomœa purpurea*, n'en ont jamais observé plus de deux dans chaque alvéole cellulosique.

Et enfin, dans *Helleborus viridis*, je n'ai jamais réussi, quoique j'ai observé des anthères à des stades très variés du développement, et en

particulier que je possède dans mes préparations les divers stades des deux divisions allotypiques, à déceler de cinèses dans les cellules-nourricières, dans lesquelles je n'ai jamais observé qu'un seul noyau.

b) Les Karyogamies.

Si l'on considère l'assise nourricière à un moment où ses cellules sont encore uninucléées, on constate que tous les noyaux ont à peu près la même taille, et qu'ils sont tous parfaitement sphériques ou régulièrement ovoïdes. Ceci est nettement visible sur les figs. 3, 4, 7.

Au contraire, les noyaux des cellules-tapètes, étudiés à un moment où chacune d'elles est polynucléée, sont de dimensions très variables. Considérons par exemple la fig. 5. Dans plusieurs cellules on voit deux noyaux, à peu près de même taille l'un que l'autre. Dans d'autres il n'y en a qu'un seul, mais environ deux fois plus volumineux que chacun des noyaux des cellules précédentes; — dans d'autres il en existe deux, l'un étant de taille normale, et l'autre deux fois plus gros; — dans une ou deux autres cellules on aperçoit deux noyaux de taille double; — et enfin, dans une cellule située à la partie inférieure de la section, il n'y a qu'un seul noyau, mais énorme.

De plus, les formes de ces noyaux particulièrement volumineux sont souvent irrégulières. Il en est plusieurs d'ovoïdes: un a la forme d'un chapelet. Et enfin, au lieu d'être répartis dans la cellule à des intervalles réguliers, ils sont souvent plus ou moins rapprochés; et même dans une cellule il en est deux qui sont étroitement accolés.

Sur la figure 6, relative au *Fuchsia*, on voit aussi que quelques cellules possèdent un noyau unique, mais plus volumineux, et ici encore on observe que les noyaux sont accolés les uns aux autres. Cette apparence est même la règle dans toutes les cellules à peu près.

Dans la figure 11 (Belladone), on voit des cellules binucléées, leurs deux noyaux étant toujours au contact, et des cellules uninucléées dispersées au milieu des précédentes, et dont le noyau est à peu près de taille double.

La fig. 12, relative au *Fuchsia*, montre ces apparences avec une particulière netteté. Deux cellules ont quatre noyaux, tous de même taille, non seulement dans une cellule donnée, mais encore dans les deux: les deux autres ne possèdent chacune que deux noyaux, mais de volume double, et encore à peu près équivalents entre eux dans les deux cellules.

Ces variations de taille sont aussi très nettes dans la figure 14, relative à la Jusquiame.

Ces apparences sont d'une extrême généralité dans le tapetum des Angiospermes, où elles ont depuis longtemps attiré l'attention des auteurs.

On trouve dans la littérature de nombreuses indications, relatives à l'accolement étroit des noyaux entre eux, à la taille énorme de certains autres. Ces aspects ont par exemple été signalés par Gates (1907) dans *Œnothera lata*, par Tischler (1906a) dans divers *Ribes*, et (1908) dans un hybride de *Mirabilis*, par Winkler (1906) et Strasburger (1909) dans *Wickstrœmia*, par Geerts (1909) dans *Œnothera Lamarckiana*, etc. La plupart des auteurs sont d'accord pour expliquer ces apparences par des phénomènes d'amitose: certains noyaux accroissent beaucoup leurs dimensions, jusqu'à doubler, tripler ou même quadrupler leur volume primitif; ils présentent alors des phénomènes de segmentation simple ou multiple, qui engendrent des vésicules très bourgeonnées, soit dans une seule direction, soit dans tous les sens; — quant au rapprochement étroit de plusieurs noyaux et à leur accolement, ils s'expliqueraient, soit par le mode de formation même des diverses vésicules-filles bourgeonnées par de pareils noyaux hypertrophiés, soit par un rapprochement secondaire de noyaux nés par mitose, rapprochement qui a intrigué certains auteurs, Rosenberg en particulier, mais dont ils ne s'expliquent guère la raison d'être.

Cette manière de voir est à mon avis inexacte. Mais, pour plus de clarté, je vais d'abord exposer la marche des phénomènes, telle que je la conçois, et c'est après seulement que je discuterai les interprétations opposées.

Comme je l'ai déjà indiqué brièvement dans une note préliminaire (1911e), j'estime que toutes les apparences ci-dessus reçoivent une explication pleine et complète si l'on admet que dans les cellules-tapètes il se produit des fusions nucléaires. C'est la réalité de ces fusions que je vais maintenant prouver, tout en décrivant par le détail les apparences remarquables qu'elles entraînent et par lesquelles elles se trahissent. A ce sujet, la série de mes observations est particulièrement complète dans le *Yucca*, plante dans laquelle d'ailleurs ces phénomènes me paraissent se dévoiler avec une netteté exceptionnelle. Aussi c'est d'abord dans ce cas que je les étudierai.

Nous savons que le noyau primitivement unique de chaque cellule-tapète donne par mitose deux noyaux F_2, lesquels à leur tour engendrent par deux mitoses conjuguées 4 noyaux F_3.

A) Envisageons d'abord uniquement les cellules-nourricières possédant 2 noyaux F_2. Comme je l'ai déjà dit, ces deux noyaux ont une tendance très marquée à se rapprocher l'un de l'autre. Ce rapprochement va dans quelques cas jusqu'à ce point que les deux noyaux s'aplatissent suivant les faces en regard, même quand elles ne sont pas absolument au

contact, et offrent alors en section la forme de deux demi-cercles dont les diamètres se feraient vis-à-vis. Cet aplatissement est bien marqué sur les figures 38, 41, 42, 70, etc. Et même, dans la figure 42, les deux surfaces en regard ne sont pas absolument planes, mais un peu onduleuses; or, fait remarquable, les courbes des deux surfaces sont absolument complémentaires l'une de l'autre, chacune d'elles reproduisant les sinuosités de celle qui lui fait face. Cette apparence prouve bien une forte tendance au rapprochement de la part des deux noyaux, puisque non seulement ils perdent leur forme régulièrement courbe, ce qui est déjà une grande modification par rapport aux manières d'être normales, mais que de plus dans quelques cas leurs surfaces deviennent irrégulières sur une partie de leur étendue, et de telle manière qu'elles continuent à être intimément voisines l'une de l'autre en tous les points.

On ne peut pas songer à expliquer ce rapprochement des noyaux par l'étroitesse de la cellule; il suffira d'envisager par exemple les figures 6 et 11 pour voir que, dans l'étendue d'une même section, les cellules où les noyaux sont rapprochés ne sont pas de dimensions plus restreintes que celles où ils sont distants l'un de l'autre; — et, dans les figures 38 à 50, où j'ai indiqué par une teinte la superficie de la cellule, on voit aussi très nettement que les noyaux ont largement la place nécessaire pour conserver leur forme sphérique ou régulièrement ovoïde.

Ce rapprochement des deux noyaux contenus dans une même cellule ne se constate pas d'ailleurs au même instant ni avec la même intensité pour toutes les cellules situées à un même niveau du sac pollinique; dans une même section en effet on observe des cellules où les noyaux sont espacés et d'autres où ils sont plus ou moins rapprochés.

Sur les causes de cet avoisinement, je ne puis rien avancer. Peut-être les noyaux sont-ils rapprochés passivement l'un de l'autre par les mouvements du plasma; cette hypothèse me paraît peu vraisemblable. Němec pense (1904) (p. 719) que peut-être ils se rapprochent activement, en se bougeant à l'aide de prolongements amœbiformes. Mais je n'ai jamais observé de pseudopodes de ce genre dans les cellules-tapètes binucléées. Il est plus probable que ce sont des actions réciproques, mal définies d'ailleurs, du plasma et des noyaux, qui amènent ceux-ci à se rapprocher. Et cette hypothèse est rendue vraisemblable par le fait que, dans certaines cellules polynucléées, les noyaux ne se rapprochent pas: laticifères, cellules plurinucléées des Spirogyres (Gerassimoff 1904).

Ces phénomènes de rapprochement seraient déjà suffisamment étranges, même s'ils n'étaient accompagnés d'aucune autre modification.

Mais corrélativement on observe, dans chacun des noyaux, des apparences extrêmement remarquables.

Ces modifications consistent essentiellement dans une polarité très marquée des noyaux, dûe à la répartition de la chromatine à leur intérieur. Celle-ci en effet, devenant assez peu abondante dans la majeure partie de la cavité nucléaire, s'accumule sous forme d'amas toujours très nets le long de cette portion de la surface de chaque noyau qui fait vis-à-vis à l'autre. J'ai figuré un certain nombre de ces aspects sous les numéros 38 à 50. Dans la figure 50, la polarité est assez peu marquée. On voit cependant nettement que la cavité nucléaire est parcourue par quelques traînées ne présentant pas d'agglomérations bien importantes de chromatine, et que celle-ci forme sur les faces en regard des deux noyaux des amas et des bandes épaisses. Il en est de même dans les figures 46 et 47; mais ici ces agglomérations sont déjà plus considérables. Enfin, dans les figures 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 48, 49, la majeure part de la chromatine est accumulée le long des faces planes des deux noyaux. Cette disposition, très nette dans toutes les figures, est particulièrement accusée dans les figures 38, 41, 42, 48.

Cette concentration de la chromatine suivant certaines surfaces n'est d'ailleurs pas absolue. En effet il en reste toujours des traînées dans l'étendue de la vésicule nucléaire, et les nucléoles demeurent aussi dans celle-ci, sans position fixe. On ne saurait donc songer à voir là une contraction synaptique plus ou moins analogue à celle que subissent les noyaux des cellules-mères du pollen.

Quoi qu'il en soit, les noyaux ainsi polarisés doivent avoir dans l'espace la forme d'une demi-sphère, la surface plane de cette demi-sphère étant recouverte sur toute son étendue d'une couche épaisse, et plus ou moins continue, de chromatine.

Ces phénomènes si remarquables de polarité offrent sans doute des relations avec le mode de répartition des chromosomes à la télophase de la mitose qui a engendré ces deux noyaux. J'y reviendrai plus tard. Mais étudions d'abord l'évolution ultérieure de ces noyaux polarisés.

Ces deux noyaux se rapprochent de manière à ce que les surfaces planes situées en regard viennent absolument au contact l'une de l'autre. La figure 52 représente un état de ce genre. On voit les deux noyaux en forme de dé, les faces planes revêtues d'une couche épaisse et continue de chromatine, qui sont accolés sur toute l'étendue de celles-ci, sauf en un point, vers le milieu, où il existe encore un espace libre entre les deux parois. Les deux noyaux sont sans doute encore individualisés, comme le montrent cet espace libre médian et l'incisure périphérique dont la

préparation indique l'existence suivant le plan d'accolement. Il se peut que dans certains cas les noyaux demeurent ainsi accolés durant quelque temps, mais tout en conservant chacun leur individualité. Sappin-Trouffy (1896) a observé en effet que chez de nombreux Champignons, après la fécondation, les deux pronuclei peuvent durant plusieurs générations cellulaires demeurer accolés sans se fusionner. Il en est de même, d'après Häcker (1895, 1902) chez les Copépodes; et d'après Němec (1910) dans les racines polynucléées de *Ricinus*, où cependant les noyaux sont si rapprochés qu'ils sont aplatis suivant les surfaces de contact, — et (1904) dans les racines chloralisées de *Allium*, où les fusions peuvent être également différées plus ou moins longtemps.

Mais finalement la membrane nucléaire doit disparaître suivant la surface d'accolement, et les deux plaques chromatiques se fusionnent en une seule. Pendant ce temps à la périphérie l'incisure disparaît par reconstitution d'une portion de membrane nucléaire. Tous ces phénomènes sont bien visibles sur les figures 54 a, b, c, qui représentent trois coupes optiques successives dans un tel synkaryon. La double cavité nucléaire était parsemée de fines traînées chromatiques anastomosées que j'ai représentées par des teintes grises, — mais la chromatine forme au niveau du petit plan axial de l'ovoïde une agglomération très volumineuse. Sur la coupe 54a, on voit cet amas médian se bifurquer en deux branches qui vont rejoindre tangentiellement les membranes nucléaires, et dans l'angle formé par ces deux branches il s'est reconstitué une portion de membrane. Cette bifurcation est encore plus nettement visible sur la figure 54c, du côté droit; du côté gauche on voit que, vers les plans les plus inférieurs de la section, il ne s'est pas différencié encore entre les deux noyaux de membrane de nouvelle formation. Et, d'une extrémité de l'axe à l'autre, s'étend une masse chromatique très volumineuse, comme on s'en rend bien compte en superposant les trois figures par la pensée.

Cet état doit persister assez longtemps, vu le très grand nombre de noyaux à ce stade que j'ai observés. Mais il se produit ensuite de nouvelles modifications, qui tendent à donner au nouveau noyau l'équilibre interne qui lui manque encore. Ces modifications consistent dans une dissémination de la chromatine accumulée suivant cette cloison médiane qui divise en deux cavités la vésicule nucléaire. Cette dissémination se produit par une dislocation de cette cloison en bandes chromatiques, qui durant un certain temps demeurent accumulées vers le centre du noyau. Mais peu à peu la chromatine émigre en partie vers les deux pôles de la cavité nucléaire, qui ainsi reprend un aspect homogène et normal. La figure 51 montre une des premières étapes de cette évolution:

des traînées noires, épaisses, anastomosées et enchevêtrées, occupent la partie médiane, encore étranglée, de la cavité nucléaire; celle-ci contient de nombreux nucléoles. Dans la fig. 55, cette agglomération centrale est moins accentuée. Il en est de même dans la figure 57, où, quoique l'incisure annulaire soit encore très nettement marquée, les cavités nucléaires sont déjà homogènes. C'est à peine si deux bandes chromatiques puissantes sont encore réunies au niveau de l'étranglement. Il en est de même dans un des deux noyaux de la figure 60. Enfin, dans la figure 58, toute trace de polarité a disparu.

Les autres plantes que j'ai étudiées m'ont montré des apparences sériées tout à fait analogues, mais cependant moins schématiques et caractérisées, parce que en général la polarité des noyaux sur le point de se fusionner y est moins accentuée. Par exemple, dans la Jusquiame, le réseau nucléaire est formé, je l'ai dit, par un système trabéculaire très mince portant des amas de chromatine. Certains de ces amas se disposent tout contre les surfaces de contact des deux noyaux, serrés les uns contre les autres, et sont donc répartis sur les surfaces planes un peu comme des pions sur un damier. On le voit nettement sur le figure 93. La figure 94 montre la fin d'une gamie. Il y a toujours une bande médiane de chromatine; les surfaces nucléaires se sont raccordées.

B) Ces karyogamies peuvent se produire à une époque plus avancée de l'évolution des cellules-nourricières, alors que celles-ci contiennent, non plus seulement deux, mais quatre noyaux.

Dans la figure 12 par exemple il est certain que les deux cellules qui maintenant ne contiennent que deux noyaux en possédaient autrefois quatre, mais qui se sont fusionnés deux à deux. Dans la figure 56, on voit une cellule à 3 noyaux; 2 sont en train de se fusionner; le 3e, très volumineux, provient sans doute, comme l'indique son volume comparé à celui des deux noyaux en voie de gamie, de deux noyaux semblables déjà fondus en un seul. Dans la figure 59 au contraire le noyau sphérique est peut-être un noyau non issu de fusion, eu égard à sa taille.

Dans tous les cas ci-dessus étudiés, les fusions s'opéraient seulement entre deux noyaux. Mais ce n'est pas là une règle générale: ces gamies peuvent s'effectuer entre 3 ou 4 noyaux, et on peut en quelque sorte prévoir la manière dont elles se produiront d'après la manière dont s'accolent les noyaux, deux par deux, ou trois ensemble, etc. On peut voir des exemples de ces divers groupements sur la figure 6. Les figures 62 et 63 montrent 3 noyaux en voie de fusion. Dans la figure 61, qui représente une vésicule nucléaire très pauvre en chromatine, il en est sans doute de même, comme le suggèrent les deux traînées chromatiques transversales.

Mais la fusion est très avancée. La figure 13, relative au *Fuchsia*, montre un noyau replié sur lui-même en forme de C, et dans lequel on distingue nettement 4 vésicules constituantes, chacune avec ses nucléoles, et séparées toujours par des bandes de chromatine qui indiquent leurs limites. Au-dessus, on voit dans une très grande cellule un noyau énorme, issu peut-être de la fusion de deux noyaux tels que ceux que l'on voit au-dessus de lui. La figure 95 montre encore, dans *Hyoscyamus albus*, un noyau très volumineux, issu de la fusion de plusieurs noyaux normaux.

Ainsi donc les fusions ne s'opèrent pas nécessairement d'une manière synchrone pour tous les noyaux contenus dans une même cellule. Tischler (1900) a observé des phénomènes analogues dans l'endosperme de *Corydalis cava*. Ici, comme dans les cellules-tapètes, on trouve en effet des noyaux de taille normale voisinant avec d'autres noyaux beaucoup plus volumineux, ellipsoïdes ou incisés. Němec (1910) a fait des observations concordantes dans les cellules plurinucléées de *Ricinus*.

Ces fusions donnent donc naissance à des noyaux qui, au moins durant un certain temps, sont étranglés à un ou plusieurs niveaux. Mais il est probable que finalement leur forme se régularise. Cette régularisation peut d'ailleurs se suivre sur les figures que je donne. Il est évident par exemple que le noyau énorme de la figure 13 n'a pas dès le début présenté cette forme régulière, mais qu'il s'est produit une régularisation secondaire de sa forme, régularisation qui a déjà commencé à s'effectuer dans le noyau de la figure 58. Par conséquent les synkaryons possèdent au moins durant un certain temps une forme en haltère, en biscuit, comme par ex. dans la figure 37, qui montre un de ces noyaux dans la Belladone, et on comprend que cette apparence ait pu faire penser à des phénomènes d'amitose. Je reviendrai d'ailleurs plus tard sur cette question.

J'ai dit que les noyaux quiescents sur le point de se fusionner étaient extrêmement polarisés, par suite de la répartition irrégulière de la chromatine à leur intérieur. On a signalé chez les Végétaux et chez les Animaux de nombreux cas de polarité, relatifs à des noyaux issus d'une même mitose. Voici à quoi sont dûs ces aspects: à la télophase, les chromosomes émigrent à un pôle de la vésicule nucléaire en voie de reconstruction, et conservent cette position jusque dans le noyau quiescent, de telle sorte que celui-ci présente des amas de chromatine comparables à ceux que l'on voit sur les figures 38 à 50. En particulier chez le *Yucca*, Clemens Müller (1909) a décrit des phénomènes de ce genre.

Le *Yucca* possède dans les cinèses somatiques deux sortes de chromosomes:

1. dix megachromosomes, en forme de bâtonnets de 5 à 6 fois plus longs qu'épais;

2. environ 45 microchromosomes, beaucoup plus courts.

Or à la métacinèse les microchromosomes se segmentent longitudinalement plus tôt que les megachromosomes, de sorte qu'ils arrivent les premiers aux pôles extrêmes de la figure mitotique. Les megachromosomes se répartissent alors dans les deux vésicules nucléaires en voie de reconstruction uniquement du côté qui regarde le centre de la figure, et forment donc dans les deux noyaux quiescents deux amas situés vis-à-vis l'un de l'autre.

Il se peut que la répartition des megachromosomes à la télophase constitue la première indication de la polarité si accusée que j'ai observée, et que celle-ci n'en soit en quelque sorte que le renforcement. Il est même nécessaire de l'admettre, pour comprendre certains aspects particulièrement remarquables, tels que celui que représente la figure 92. Cette figure montre deux noyaux en voie de fusion; on voit au niveau de l'incisure annulaire une bande transversale de chromatine, et, des deux côtés, s'éloignant perpendiculairement dans les cavités nucléaires, deux amas en forme de massue, remarquablement symétriques l'un de l'autre. On ne peut évidemment expliquer cette apparence que par la disposition des chromosomes à la télophase: il devait exister à la métacinèse un groupe particulièrement important de chromosomes; les deux groupes de chromosomes-fils ont conservé des dispositions comparables, et ainsi a pris naissance cette apparence symétrique.

Mais cette répartition des megachromosomes ne suffit pas à elle seule à expliquer les aspects que j'ai observés. En effet:

1. La polarité dûe à la répartition des chromosomes à la télophase, telle que Cl. Müller la figure et telle que je l'ai observée moi-même dans les cinèses somatiques de *Yucca gloriosa*, n'est jamais aussi accusée que dans les noyaux en voie de fusion.

2. Seuls les noyaux-tapètes situés très près l'un de l'autre présentent ces phénomènes. Je n'en ai pas vu de semblables lorsque ces noyaux étaient éloignés l'un de l'autre d'une manière sensible.

Cette concentration de la chromatine le long des faces aplaties des noyaux sur le point de se fusionner n'a été à ma connaissance signalée qu'une fois, par Rosenberg (1901), pour les noyaux de l'endosperme de *Zostera marina*. Ces noyaux sont arrondis, avec un gros nucléole, »während das Chromatin in Körner- oder Stäbchenform an der Kernmembran lagert.« Or, lorsque ces noyaux se fusionnent, fusions qui s'opèrent deux à deux: »An den Berührungsflächen fand ich, daß das Chromatin

dort reichlicher vorhanden war.« (p. 16). Ceci est visible sur la figure 11 de l'auteur, mais la polarité semble ici bien moins accusée que dans le *Yucca*.

Nous venons donc de voir de quelle manière s'effectuent les fusions nucléaires entre noyaux quiescents. Mais certaines apparences m'ont paru indiquer que ces fusions peuvent également se produire entre noyaux en cinèse, à l'anaphase.

Ainsi la figure 67 représente deux diasters conjugués à axes parallèles, dans le *Yucca*. On voit que les deux plaques polaires situées vers le centre de la cellule sont absolument fusionnées en une masse commune, et au microscope, en faisant varier la mise au point, cette fusion apparaissait comme complète. Je pense donc que aux dépens de ces deux figures mitotiques il se serait reconstruit 3 noyaux, le médian deux fois plus volumineux que les deux extrêmes, — tels que ceux que représente la figure 68. Il me paraît difficile d'admettre que dans cette figure le noyau médian a pris naissance postérieurement aux deux mitoses conjuguées, étant donnée la direction de son grand axe. Dixon (1896) a observé des gamies s'opérant de la même manière dans l'endosperme de *Fritillaria imperialis*, Němec (1904) dans les racines choralisées de Pois et de Fève, Kemp (1910) dans les racines chloralisées de *Vicia Faba* et de *Galtonia candicans*.

La position relative dans la cellule des trois noyaux ainsi issus de deux mitoses conjuguées fusionnées à un pôle varie d'ailleurs suivant la situation l'un par rapport à l'autre des axes de ces deux mitoses. Par exemple la mitose conjuguée représentée par la figure 69 donnera naissance encore à 3 noyaux, dont un double; mais celui-ci ne sera plus situé entre les deux autres, comme dans le cas des figures 67 et 68. Tischler (1900) a dessiné des aspects analogues, tirés de l'endosperme de *Corydalis cava*.

Ces processus de fusion peuvent d'ailleurs s'effectuer aussi entre mitoses anormales. Ainsi la figure 70 représente chez *Fuchsia* deux mitoses conjuguées irrégulières, des chromosomes étant épars sur toute la longueur du fuseau. Or à un pôle ces deux mitoses sont absolument fusionnées; les chromosomes des deux figures cinétiques y étaient complètement mélangés, et il ne se serait certainement reconstitué à ce pôle qu'un seul noyau, — à supposer qu'il ne se fut pas reformé tout autour des deux karyokinèses une seule membrane nucléaire.

Qu'elles s'effectuent entre noyaux quiescents ou entre noyaux en voie de mitose, ces fusions engendrent des synkaryons, qu'on qualifiera de polydiploïdes. Quelle est leur destinée ultérieure?

Si on examine, à un moment où les cellules-nourricières du *Yucca* sont polynucléées, les mitoses, et principalement les plaques métaphasiques, qui y apparaissent, on en observe de tailles très différentes. Certaines n'offrent avec les cinèses somatiques normales que des différences de taille comparables à celles qui existent entre les noyaux somatiques ordinaires et les noyaux des jeunes cellules-tapètes. Par suite je les qualifierai de »normales«. — D'autres sont au contraire exceptionnellement larges. La figure 37 en montre deux. Dans la figure 71, des deux métacinèses réunies dans la même cellule, celle de droite a des dimensions normales, celle de gauche est au moins 3 fois plus large. Le tableau ci-dessous donne les résultats de quelques mesures effectuées sur ces deux sortes de mitoses, dans le *Yucca*:

Diamètres en μ.

Mitoses normales	Mitoses anormales
12	19,2
12	21,6
9,6	17,2
12	14,4
10,2	14,4
13,5	15,6
7,9	14,9
9,6	25,2
	19,2

Déjà par leurs dimensions, ces métacinèses suggèrent l'idée qu'elles proviennent de noyaux de taille plus considérable. Et en effet elles possèdent toujours un nombre de chromosomes supérieur au nombre diploïde; par conséquent elles ne proviennent pas de noyaux diploïdes, mais de synkaryons polydiploïdes.

Etudions ces mitoses d'une manière détaillée.

Lorsqu'un noyau polydiploïde entre en spirème, plusieurs cas peuvent se présenter. Ou bien la gamie s'est effectuée depuis suffisamment longtemps pour que le synkaryon ait recouvré une forme sphérique ou ovoïde, ou bien au contraire toutes traces de la fusion n'ont pas disparu, et le synkaryon est encore étranglé en forme de sablier. Dans le premier cas, le spirème est absolument normal. Dans le deuxième, une fois la membrane nucléaire disparue, les chromosomes non encore ordonnés en plaque équatoriale dessinent une surface plus ou moins irrégulière qui reproduit celle du noyau. La figure 72, relative au *Fuchsia*, en montre un exemple.

Cependant, même lorsque les noyaux polydiploïdes possèdent encore ainsi au moment de la prophase une forme irrégulière, il ne m'a paru se différencier qu'un seul spirème à leur intérieur. En d'autres termes, quoique extérieurement la membrane nucléaire reproduisît encore des traces de l'état plurinucléé, la fusion était déjà complètement achevée à l'intérieur des vésicules nucléaires, en sorte qu'il ne se formait qu'un spirème unique. Cependant dans certains cas il en est peut-être autrement. Ainsi, dans la cellule supérieure de la figure 15a, relative à la Belladone, 3 noyaux sont en voie de fusion très peu avancée; or leur réseau chromatique est déjà entièrement segmenté en chromosomes. La fusion commençant à peine, il me paraît probable que, au stade du spirème continu, un ruban parfaitement indépendant s'était différencié dans chacun d'eux. Les apparences de ce genre sont cependant assez rares, et dans la littérature elles ont été peu souvent signalées. Nemec (1910), étudiant à ce sujet les noyaux syndiploïdes de *Lilium candidum* et de *Pisum sativum*, a vu que, même dans ceux qui étaient encore ovales, les bandes spirématiques s'étendaient souvent, suivant le grand axe, d'une extrémité à l'autre, sans irrégularité. Or le plus souvent il n'en est pas ainsi, dans le synkaryon du zygote, après la fécondation. Et ceci serait un argument contre Strasburger, qui pense que la fusion des noyaux diploïdes diffère essentiellement de celle des noyaux sexuels, haploïdes, en ce qu'elle n'est jamais aussi complète.

La membrane nucléaire une fois disparue, les chromosomes se disposent en une plaque équatoriale, et celle-ci, suivant la forme qu'a eu le spirème, a soit un contour régulier, comme le montre bien une des deux métacinèses de la figure 22, soit un contour irrégulier, comme les deux plaques conjuguées de la figure 74. Dans cette dernière figure, une des deux métacinèses montre 3 épaississements séparés par des étranglements: peut-être provient-elle du produit de la fusion de 3 noyaux; — l'autre a la forme d'un sablier: elle est sans doute issue d'un synkaryon dû à la fusion de deux noyaux. Winkler (1906) a observé de pareilles plaques équatoriales en forme de sablier dans *Wickstrœmia*, et les rapporte aussi à des noyaux incomplètement fusionnés.

Quoi qu'il en soit, ces cinèses sont hyperchromatiques, et formées d'un nombre de chromosomes plus grand que le nombre diploïde normal. Ce fait peut s'expliquer, que l'on soit ou non partisan de la théorie de l'individualité et de la persistance autonome des unités chromosomiques. Si en effet on l'admet, il est évident que aux dépens de deux noyaux fusionnés en un seul il se reconstituera le même nombre de chromosomes

que celui que à eux deux possédaient ces noyaux non fusionnés. Si on la repousse, il suffit, comme l'a fait remarquer Němec (1910), d'admettre qu'un noyau quelconque entrant en prophase reconstitue nécessairement le même nombre de chromosomes qu'il a reçu à la télophase qui lui a donné naissance. Dans les deux cas, l'apparition aux dépens d'un noyau polydiploïde d'un nombre de chromosomes supérieur au nombre somatique normal est donc parfaitement explicable.

La mesure du nombre des chromosomes permet d'évaluer par là même le degré de la valence des noyaux syndiploïdes: une figure mitotique contenant deux fois le nombre diploïde de chromosomes proviendra d'un noyau didiploïde; — 4 fois: tetradiploïde; — etc. Or dans la plupart des cas la numération exacte des chromosomes de ces métacinèses hyperchromatiques est très difficile, vu leur amoncellement en très grand nombre dans un espace somme toute assez restreint, ce qui amène des superpositions partielles fréquentes, et étant donné que, par suite de leurs grandes dimensions, ces mitoses sont réparties sur plusieurs coupes successives, de sorte que inévitablement certains chromosomes sont sectionnés en deux ou plusieurs tronçons.

Le *Yucca* fournit à ce point de vue des images particulièrement nettes, à cause des deux sortes de chromosomes qu'il possède, et qui sont, comme je l'ai déjà rappelé:

a) 10 megachromosomes en forme de bâtonnets, 5 à 6 fois plus longs qu'épais;

b) 45 microchromosomes, — nombre approximatif —, qui d'après Müller (1909) seraient plus ou moins sphériques, mais qui, comme je l'ai montré (1911e), ont en réalité eux aussi la forme de petites massues.

Les megachromosomes sont donc en nombre relativement faible, et, à cause de leurs grandes dimensions, se détachent particulièrement bien, ce qui permet des numérations précises.

Or, si on examine attentivement les métacinèses des cellules-tapètes du *Yucca*, à un moment où la plupart sont bi- ou quadrinucléées, on voit que la majorité possèdent plus de dix megachromosomes. Mes figures en fournissent des exemples. Dans la figure 66 la plaque équatoriale inférieure possède au moins 14 megachromosomes. Dans la figure 22, on peut en compter 23 dans la métacinèse qui se présente en vue polaire, 25 dans celle qui est vue de profil. Il y en a de 25 à 30 dans la métacinèse supérieure de la figure 75. Presque toutes les mitoses que l'on observe à ce moment là dans l'assise nourricière présentent ainsi un très grand nombre de megachromosomes. Il est inu-

tile de dire qu'il en est de même pour les microchromosomes, mais ceux-ci ne se prêtent pas à des dénombrements exacts.

Et ces modifications vont s'accentuant à mesure que l'âge des cellules-nourricières augmente. Dans la figure 76, qui représente un spirème vu par le profil, on compte au moins 44 ou 45 megachromosomes, et cependant on ne les voit pas tous, étant donnée la forme réelle de la figure. Et, dans la figure 77, qui est une plaque équatoriale en vue polaire, il y en a 67; et il devait en exister d'autres sur la face opposée.

On pourrait songer à expliquer cet accroissement du nombre des chromosomes par une de ces variations spontanées que Della Valle (1909) a cataloguées dans les deux règnes. Mais il n'en est certainement pas ainsi. Un exemple le prouvera facilement. Della Valle étudie les mitoses du péritoine des larves de *Salamandra maculosa*, et quarante mitoses lui donnent les résultats suivants:

Nombre des chromosomes:	19	20	21	22	23	24	25	26	27
Nombre de mitoses:	1	0	1	1	6	16	12	2	1.

Il y a donc là une variation fluctuante, mais de faible amplitude, et ceci suffit à faire rejeter cette interprétation dans le cas qui nous occupe, et où le plus grand extrême que j'ai observé (67 megachromosomes) est par rapport au nombre diploïde (10) comme le nombre 7 par rapport au nombre 1.

On rencontre fréquemment des mitoses hyperchromatiques dans les testicules jeunes, au cours des divisions des spermatocytes. Or voici ce qu'à ce sujet écrit P. Bouin (1904), dans le «Traité d'Histologie» de Prenant, P. Bouin et Maillard (I, p. 949): «L'augmentation du nombre des chromosomes paraît être la conséquence, dans la majorité des cas, d'une division asymétrique. C'est également l'opinion de Hansemann, Claessen, Galeotti. Mais d'autres interprétations de ce phénomène ont été fournies par les auteurs. Virchow, Klebs pensent que l'hyperchromaticité des cellules carcinomateuses peut être dûe à l'apport de matériaux nucléaires par l'intermédiaire des globules blancs. Flemming et Hansemann admettent d'autre part que la fissuration longitudinale des chromosomes peut anormalement s'opérer plusieurs fois de suite et donner naissance à un nombre de segments chromatiques double ou triple du nombre normal. Remarquons aussi que les cellules hyperchromatiques sont le plus souvent des cellules «hypercytoplasmiques» pour ainsi dire; ce phénomène plaide en faveur d'une nutrition aberrante; celle-ci provoque sans doute la multiplication des microsomes chromatiques, leur augmentation de volume, ou le dédoublement plusieurs fois répété des chromosomes. Tous

ces processus sont vraisemblables et peuvent être invoqués légitimement».

On pourrait songer à expliquer par des raisons de ce genre l'hyperchromaticité des mitoses des cellules-tapètes, hyperchromaticité qui dès lors ne serait plus dûe, comme je le soutiens, à des karyogamies. A ce sujet je ferai les remarques suivantes:

a) Il ne me paraît pas en définitive exister de mitoses hétéropolaires dans les cellules-nourricières. Au début de mes recherches je croyais à leur existence réelle, mais une étude approfondie des préparations sériées, et en particulier l'examen des coupes situées immédiatement avant ou après la coupe envisagée montre toujours que l'apparente hétéropolarité est dûe à ce que la mitose en question a été sectionnée obliquement par le rasoir du microtome.

b) Les cellules-tapètes ne sont pas hypercytoplasmiques, comme les cellules-géantes des néoplasmes, et par conséquent on ne saurait expliquer l'hyperchromaticité de leurs noyaux par une réaction secondaire à l'hypertrophie de leur corps cellulaire. Ces cellules sont au contraire très semblables à des cellules glandulaires, et dans celles-ci on n'a pas signalé d'apparences analogues à celles que Flemming et Hansemann ont décrites dans les sarcomes et les carcinomes.

c) Les cellules des néoplasmes sont dans un état essentiellement pathologique, très différent de celui dans lequel se trouvent les cellules-tapètes. Et de même la division et la subdivision des chromosomes à l'état quiescent, suivies de la séparation complète des segments ainsi formés, est un phénomène complètement anormal. Une exception est il est vrai fournie par certains noyaux des sacs embryonnaires (antipodes, noyaux-polaires, etc.), où il s'effectue de même dans certains cas une multiplication du nombre des chromosomes par scission longitudinale, mais ici on a affaire à des noyaux haploïdes, et très certainement à des phénomènes de régularisation secondaire.

Pour ces diverses raisons, — et des arguments plus significatifs encore se dégageront des pages suivantes —, je ne crois pas que l'on puisse rapporter à une autre cause qu'à des karyogamies les mitoses hyperchromatiques des cellules-tapètes.

Ces mitoses, je le répète, ne sont pas des exceptions; bien loin de là, elles constituent la règle générale, une règle absolue, dirais-je presque. A tel point qu'il devient très rapidement difficile, même en étudiant de nombreuses coupes, de trouver des mitoses normales, issues de noyaux diploïdes.

Dans les plantes autres que le *Yucca*, il en est absolument de même; mais ici les choses sont plus difficiles à étudier, à cause du grand nombre de chromosomes que possèdent la plupart des autres plantes que j'ai étudiées, et de leur taille très faible (*Hyoscyamus*, *Cobœa*, *Atropa*, *Fuchsia*). En particulier dans ce dernier, le nombre des chromosomes est certainement supérieur à 50 dans les cellules somatiques; mais j'ai observé dans les cellules-tapètes des mitoses énormes, qui en contenaient plus de 200 ou de 250. J'en ai représenté une, un peu plus claire que d'ordinaire, justement parce qu'elle renferme, relativement à beaucoup d'autres, assez peu de chromosomes, dans les figures 78 a et b, qui représentent deux coupes différentes (dûes au rasoir) de la même métacinèse. On y compte plus de 120 chromosomes, et cependant la figure n'était pas tout entière contenue dans ces deux préparations. La figure 79 montre, toujours dans le *Fuchsia*, une plaque équatoriale énorme, issue d'un noyau polydiploïde. Ses dimensions tout à fait remarquables sont 14 μ, 4 × 7 μ, 9, — les dimensions normales étant (au début de la formation des cellules-nourricières, dans les mitoses suivies de cloisonnements):

9,1 × 2,4	8,1 × 2,4
8,4 × 2,4	8,6 × 2,5
9,3 × 3,1	9,9 × 2,4.

Je pourrais faire des remarques tout à fait semblables au sujet de la Belladone par exemple.

Au cours des mitoses qui s'effectuent dans les cellules-tapètes, et principalement de celles qui sont hyperchromatiques, il apparaît des modifications dans la forme des chromosomes. On connaît actuellement plusieurs cas de pareilles variations de forme dans les diverses cellules d'un même être; la plus remarquable de beaucoup est celle qui se présente lors de la cinèse hétérotypique. On sait en effet que les gemini sont très différents par leur forme et leur taille des chromosomes des cinèses somatiques, avec lesquels ils présentent des différences constantes et toujours considérables. Ils sont plus gros, plus courts, plus massifs.

Ces modifications dans la forme des chromosomes des noyaux-tapètes sont très nettes dans le *Yucca*, pour les megachromosomes. La forme normale a été nettement figurée par Müller (1909) et par moi-même dans un autre travail (1911e). On peut l'apercevoir d'ailleurs sur certaines figures de ce mémoire (fig. 71, 75). La principale modification que j'ai observé consiste dans ce fait que les megachromosomes deviennent plus massifs, plus arrondis. Ceci se voit dans la mitose supérieure de la

figure 19. Dans d'autres cas il y a simplement exagération de la forme en massue, qui devient beaucoup plus accentuée, — comme dans la figure 86, qui représente une portion de mitose normalement chromatique, et dans la figure 87, où j'ai représenté isolément quelques chromosomes d'une plaque équatoriale très hyperchromatique.

Ces variations de taille ne donnent d'ailleurs jamais aux chromosomes une forme comparable à celle des gemini hétérotypiques. La forme des gemini megachromosomiques[1]) est visible sur les figures 88 et 89. On voit qu'elle diffère notablement des diverses formes précitées des chromosomes des cellules-tapètes.

Dans l'Asphodèle, les chromosomes des noyaux-tapètes sont représentés par la figure 90. Ils sont plus épais et plus longs que ceux des cellules somatiques ordinaires et que les gemini.

Un pareil accroissement en épaisseur s'observe aussi dans la Belladone, le *Cobœa*, etc.

Somme toute, ces variations sont assez peu importantes, et tiennent très probablement à la taille plus considérable, et partant à la plus grande richesse en substances chromatiques, des noyaux des cellules-tapètes. Je ne crois pas que l'on puisse rapporter ces variations, à cause de leur faible amplitude, à des fusions de chromosomes, telles que celles que Némec (1910) a observées dans certains noyaux polydiploïdes.

Je signalerai à part un certain dimorphisme que j'ai observé dans les chromosomes du *Fuchsia*, et qui d'ailleurs se retrouve dans les cinèses somatiques. La forme la plus fréquente des chromosomes, dans l'espèce que j'ai étudiée, est celle que l'on voit uniquement représentée sur la figure 70, et que possèdent la presque totalité des chromosomes dans les figures 78 a et b. Mais on peut trouver des chromosomes plus longs (3 à 4 fois plus longs que les chromosomes ordinaires), tout en ayant le même diamètre. Ils paraissent ne pas exister dans toutes les mitoses (fig. 70), et dans les autres se trouvent en nombre plus ou moins grand. Par exemple on en voit 2 ou 3 dans chacune des figures 78 a et b; ils sont plus nombreux dans la figure 91, qui représente une mitose hyperchromatique. D'ailleurs, je le répète, ils ne sont pas caractéristiques des cellules-nourricières, se retrouvant dans les cinèses somatiques normales. Leur manière d'être est d'ailleurs très difficile à étudier, par suite du grand nombre de chromosomes que présente le *Fuchsia*, et du fait qu'ils ne me paraissent pas occuper de places privilégiées au cours de la karyokinèse.

[1]) Le dimorphisme des chromosomes persiste jusque dans les cellules germinales, comme Koernicke (1901) l'a vu dans le sac embryonnaire de *Yucca filamentosa*, et moi-même dans la microsporogénèse de *Yucca gloriosa*.

Lécaillon (1910) a observé une variation tout à fait comparable dans l'embryon parthénogénétique de la Poule.

Je dois faire une mention spéciale, au sujet de tous ces phénomènes, pour la Jusquiame, à cause des particularités très remarquables que les noyaux quiescents de cette plante m'ont offert. Si on examine un noyau diploïde de cette plante, tel que celui que représente la figure 80, on voit à son intérieur un fin réseau de linine, plus ou moins polygonal, qui porte de place en place des amas de chromatine, de formes assez variables, mais qui sont à peu près de même volume. Et ces amas de chromatine sont exclusivement répartis à la périphérie de la cavité nucléaire. A l'intérieur même de celle-ci, on ne trouve en fait de formations colorables que un ou deux nucléoles, qui d'ailleurs ne retiennent pas fortement la laque ferrique d'hématoxyline. On le voit sur la figure 80, où le nucléole est presque entièrement décoloré, les amas de chromatine possédant au contraire une belle teinte noire. Le nombre de ces amas varie suivant les noyaux envisagés, mais dans des limites assez étroites, m'a-t-il paru: de 12 à 18 à peu près. Leur nombre en tout cas est très inférieur au nombre des chromosomes, qui est trop élevé pour que j'aie pu le déterminer exactement, mais supérieur à 35.

Or, si on étudie les noyaux peu de temps après la télophase, on voit qu'ils possèdent, répartis sur le réseau de linine, et toujours à la périphérie de la cavité nucléaire, un grand nombre de petits corps, de même forme et de même volume, situés à des distances régulières (fig. 103), et c'est plus tard seulement que les gros amas précités apparaissent. Par comparaison avec les images observées par Laibach (1907), Overton (1909), etc., j'envisage les petits granules de chromatine comme des prochromosomes, et les gros comme des masses provenant de la fusion de plusieurs prochromosomes ensemble.

Les noyaux des cellules-tapètes possèdent la même structure. Et, si on envisage les noyaux syndiploïdes de ces cellules, on voit qu'ils possèdent aussi ces agglomérations de chromatine, mais plus volumineuses et en nombre plus grand. Cela est nettement visible sur les figures 16, 81, 82, dessinées au même grossissement. Dans la figure 81, le noyau en possède 16 environ, très volumineux. Il en est de même dans la figure 82, mais les amas de chromatine sont ici moins gros, et parallèlement la taille des noyaux est plus faible.

Ces observations sont encore trop incomplètes pour permettre des conclusions précises touchant la signification de ces masses volumineuses de chromatine. Mais je retiendrai seulement le fait que, dans *Hyoscyamus albus*, le nombre de ces amas permet de se rendre approximativement

compte du degré de l'hyperchromaticité, et que d'autre part il ressort de l'étude des cinèses somatiques qu'ils proviennent chacun de la réunion de plusieurs prochromosomes.

Revenons en à l'évolution des métacinèses polydiploïdes, dont je viens d'étudier la différenciation et les particularités.

Ces métacinèses évoluent le plus souvent d'une manière régulière, quelle que soit leur forme, en sablier ou bien régulièrement circulaire ou elliptique. Les chromosomes, comme normalement, subissent une division longitudinale; ils émigrent vers les pôles de manière à se séparer en deux amas, nettement distincts, et autour de chacun desquels se reforme une membrane. Ainsi donc prennent naissance deux noyaux de même valence que le synkaryon dont est issue la cinèse envisagée, et qui sont aussi volumineux que lui.

Ces mitoses polydiploïdes sont, fait remarquable, presque toujours normales; ce n'est que très exceptionnellement que j'y ai observé une anomalie, et même cette anomalie est, on va le voir, une question d'interprétation. Il arrive que l'on trouve des mitoses polydiploïdes semblables par leur aspect à celle que représente la figure 70, ayant par suite la forme d'un V. Or on peut interpréter ces figures de deux manières:

1. On peut admettre que ce sont là deux mitoses conjuguées polydiploïdes dont deux pôles se réunissent, et donnent par suite naissance à deux noyaux de valence simple et à un de valence double.

2. Mais on peut admettre aussi que ce sont là des mitoses polyploïdes provenant de noyaux encore incomplètement fusionnés, et dans lesquelles, à l'anaphase, une des deux plaques polaires s'est scindée en deux. Dans ce cas une telle cinèse engendrera un noyau de valence simple et deux de valence moitié.

Il est évidemment impossible de choisir dans le cas qui nous occupe entre les deux hypothèses. Dans les racines chloralisées de *Vicia Faba*, où Kemp (1910) a observé des images analogues, cette distinction peut être faite, en tenant compte de la taille des cellules où les mitoses apparaissent (régularisation secondaire de la relation nucléoplasmatique). Mais les cellules-tapètes ne peuvent s'agrandir, en sorte qu'on ne peut décider entre les deux possibilités.

Winkler (1906) non seulement admet la possibilité d'une telle scission d'une plaque anaphasique produite par la division cinétique d'un synkaryon, mais va plus loin, et pense que, lorsque les métacinèses hyperchromatiques sont très nettement en forme de sablier, il se reforme à leurs dépens quatre noyaux. Němec (1910) a également observé, dans l'endosperme de *Cory-*

dalis pumila, que assez fréquemment il se reforme, à la télophase d'une cinèse issue d'un noyau polydiploïde, non pas un noyau à chaque pôle, mais 2 ou 3 étroitement accolés.

La fusion de deux noyaux ne diminue donc pas leur vitalité, puisque le synkaryon résultant de cette fusion peut se diviser par karyokinèse, et engendrer ainsi d'une manière absolument normale deux noyaux-fils, de même valence que lui. Or ces deux noyaux peuvent encore se fusionner entre eux, et c'est par la répétition de ce processus que s'explique la naissance de synkaryons très polyploïdes, tels que ceux qui ont donné lieu au spirème 76 et à la métacinèse 77. Et il est même nécessaire d'admettre un mécanisme de ce genre pour expliquer la naissance de tels noyaux.

En effet, au moment où on les trouve, nulle cellule-tapète ne renferme plus de quatre noyaux de taille normale, donc diploïdes. Et la fusion de ces quatre noyaux contenant chacun 10 megachromosomes donne un synkaryon qui en renferme 40, c'est-à-dire tel qu'il ne pourrait pas engendrer les cinèses représentées par les figures 76 et 77.

Au contraire, supposons deux noyaux diploïdes dans une cellule: ils se fusionnent; il en résulte un noyau didiploïde, contenant 20 megachromosomes. Celui-ci se divise, et les deux noyaux-fils se fusionnent, ce qui donne un synkaryon tétradiploïde, contenant 40 megachromosomes; — et enfin le même processus répété une troisième fois engendre un noyau octodiploïde, possédant 80 megachromosomes, et par conséquent capable de fournir les stades représentés en 76 et 77. Nemec (1910) a observé dans le sac embryonnaire de *Secale cereale* de pareilles gamies, suivies de divisions et resuivies de fusions des noyaux-fils, qui aboutissent à des noyaux octotriploïdes. Donc dans le seigle il peut se produire 3 fusions nucléaires successives sans qu'il y ait des apparences de dégénérescence.

L'existence de ces phénomènes permet l'élaboration par diverses marches d'un noyau de valence donnée. Par exemple un noyau tétradiploïde peut, comme Němec (1910) l'a observé dans les racines chloralisées de Pois, se former de deux manières différentes: soit par fusion de deux noyaux didiploïdes issus eux-mêmes de la mitose d'un noyau didiploïde, soit par la fusion simultanée des 4 noyaux diploïdes F_3.

Un fait extrêmement remarquable est que, lorsque une cellule contient plusieurs noyaux qui ne sont pas de même valence, ces noyaux cependant se divisent simultanément. Mes figures en fournissent des exemples. Ainsi la figure 71 montre deux plaques équatoriales conjuguées: or l'une est infiniment plus riche en chromosomes que l'autre; la petite

doit être issue d'un noyau diploïde, étant donné qu'elle possède 10 gros chromosomes; l'autre provient peut-être d'un noyau tétradiploïde. Dans la figure 19, une mitose doit être normale, et l'autre issue d'un noyau didiploïde. Dans la figure 75 enfin il existe 3 mitoses conjuguées, la supérieure beaucoup plus hyperchromatique que les deux autres. De même dans la figure 68, où les 3 noyaux sont en spirème.

Ce fait, qui a déjà attiré l'attention de Winkler (1906) chez *Wickstrœmia*, et de Němec (1910) dans les cellules des racines chloralisées du Pois, montre jusqu'à quel point les noyaux inclus dans une masse plasmique sont dépendants des conditions physiologiques de celle-ci, et d'autre part ce synchronisme prouve que la richesse en chromosomes des noyaux n'a pas d'influence sur la rapidité de leur division, ce qui ressortait déjà des recherches de Juel (1898) sur les irrégularités dans la formation du pollen de *Hemerocallis fulva*, et (1900) sur la microsporogénèse de *Carex acuta*.

Ainsi donc les noyaux syndiploïdes se trahissent par des mitoses hyperchromatiques. Mais est-ce à dire que toutes les mitoses hyperchromatiques proviennent de noyaux issus de fusions semblables à celles que nous avons étudiées? Il ne faudrait peut-être pas généraliser d'une manière absolue. En effet, en étudiant des mitoses telles que celles que représentent les figures 33, 34 et 35, j'ai déjà exposé (p. 640) pour quelles raisons, à mon avis, ces cinèses sont destinées à avorter, et comment à leurs dépens il ne se reconstruit qu'un seul noyau. Mais ce noyau ne sera plus semblable au noyau primitif. En effet, à la télophase, lorsque la membrane nucléaire se reforme autour de la karyokinèse avortée, le nombre des chromosomes contenus dans la figure mitotique, épars tout le long du fuseau, est double, par suite de la division métaphasique de chaque chromosome-père. Par suite le nouveau noyau contiendra un nombre de chromosomes deux fois plus considérable que le noyau primitif. Si celui-ci était diploïde, il sera didiploïde; — s'il était didiploïde, tétradiploïde, — etc. Et ainsi prendront naissance, par un processus spécial, des noyaux syndiploïdes. En fin de compte, il y a bien toujours là une karyogamie, assez proche de celle qui s'effectue entre mitoses conjuguées, mais cependant assez différente comme mécanisme pour qu'elle mérite d'être envisagée à part.

De même, envisageons la figure 70, qui représente deux diasters irréguliers fusionnés à un pôle. S'il se reforme 3 noyaux aux dépens de cette figure, deux auront une valence 1 et le troisième une valence 2. Mais si autour des deux mitoses il ne se reconstuit qu'une seule membrane,

ce que le degré et la nature de l'anomalie permettent de considérer comme vraisemblable, le noyau ainsi produit aura une valence 4.

Mais, de même que les gamies entre plaques anaphasiques, ces fusions par avortement doivent être peu fréquentes, vu le nombre assez restreint de mitoses anormales qui peuvent leur donner naissance.

L'existence des mitoses hyperchromatiques apporte une preuve irréfutable de la réalité des gamies entre les divers noyaux de chaque cellule-nourricière. Cependant on peut encore admettre que, à côté de ces processus de fusion il existe les phénomènes inverses, c'est-à-dire des amitoses, qui causeraient une partie des apparences ci-dessus décrites. Beer (1905), Gates (1907), Tischler (1908) par exemple adoptent cette manière de voir, et admettent que, soit aux mêmes époques, soit à des moments différents, il se produit dans les cellules-tapètes les deux sortes de phénomènes. Il n'est pas inutile d'examiner cette hypothèse, en discutant les arguments qui ont été invoqués par les auteurs en faveur de ces divisions directes. Ces arguments sont principalement au nombre de quatre:

1. nombre très considérable des noyaux observés à un moment donné dans la même cellule;

2. existence de »nids de noyaux« (Lécaillon);

3. existence de noyaux de dimensions beaucoup plus grandes que les noyaux ordinaires, tels qu'ils existent au début de la vie des cellules-tapètes;

4. existence de noyaux bourgeonnés et de noyaux en forme de sablier.

Et ces apparences sont reliées de la façon suivante par les savants qui partagent cette manière de voir: certains noyaux, pour des raisons d'ailleurs inexpliquées, entrent sans se diviser dans une période d'accroissement intense, qui triple ou quadruple leur volume initial; ces noyaux une fois hypertrophiés, — et encore pour des causes inexpliquées —, entrent en voie de division directe, et ici deux phénomènes peuvent se produire, qui présentent entre eux une différence essentielle au point de vue de la destinée ultérieure des noyaux qu'ils engendrent (d'après Tischler 1901) (p. 101):

1. les «divisions amitotiques», qui engendreraient des noyaux susceptibles de se diviser ultérieurement;

2. les «fragmentations amitotiques», qui seraient liées à des variations dans la structure des noyaux, et donneraient naissance à des noyaux incapables de se reproduire.

Les «divisions amitotiques» elles-mêmes présenteraient deux variantes:

a) ou bien les noyaux se divisent par étirement en deux, ce qui donne naissance à des vésicules en forme de sablier, — et cette division binaire peut être égale ou inégale, suivant que les deux noyaux issus de cet étirement possèdent ou non le même volume;

b) ou bien ils entrent en voie de bourgeonnement. Le bourgeonnement se distingue de la division binaire proprement dite par deux caractères: d'abord dans ce cas les noyaux issus de la division sont intimément accolés les uns aux autres, et non pas réunis par un étranglement plus ou moins long; — et en second lieu les noyaux-fils bourgeonnés par un noyau donné sont toujours de dimensions bien inférieures à ce dernier. Ce bourgeonnement peut d'ailleurs être simple ou multiple; et, s'il est multiple, le noyau-mère peut finir par se segmenter tout entier en un certain nombre de descendants, qui de par leur mode de formation sont intimément accolés les uns aux autres, comme les grains d'une mûre, et donnent ainsi les nids de noyaux depuis longtemps signalés dans les cellules-tapètes.

Etudions successivement ces divers aspects.

1. Les nombreux noyaux qui existent, au moins chez certaines plantes (*Mirabilis*, *Cobœa*) dans chaque cellule-tapète, vers la fin de l'évolution, peuvent être nés aussi bien par mitoses que par divisions directes. En effet:

a) Les divisions multipolaires donnent naissance à plusieurs noyaux (fragmentation karyokinétique de Buscalioni) (1898). C'est à de pareilles mitoses multipolaires que Lécaillon (1910) rapporte une partie au moins des nids de noyaux qu'il a observés dans la portion non segmentée de l'œuf de poule parthénogénétique en voie de dégénérescence (p. 575);

b) les nids de noyaux peuvent encore, comme le fait remarquer Němec (1910) se former par suite des irrégularités que présentent souvent à la télophase les mitoses très hyperchromatiques, et qui répartissent les chromosomes, non pas en une vésicule unique, mais en plusieurs petites vésicules plus ou moins séparées entre elles.

2. L'existence de «nids de noyaux» s'explique tout aussi bien par des phénomènes de mitose que par des amitoses. Nous avons vu en effet que très souvent il se produit entre divers noyaux nés indiscutablement par karyokinèse des attractions qui les réunissent en un amas commun. Ces phénomènes d'accolement ont d'ailleurs été observés dans nombre de cas très divers: par Němec (1910), dans l'endosperme de diverses plantes, dans les racines chloralisées de *Pisum*, dans les éléments polynucléés du procambium de *Dioscorea discolor*, dans les cellules plurinucléées des racines de *Ricinus*; — par Van Wisseling (1903), dans les cellules de *Spirogyra* rendues plurinucléées par l'action de l'éther ou de l'hydrate de chloral;

— par Kemp (1910) dans les racines chloralisées de *Galtonia candicans*; — par Strasburger (1907) dans les racines chloralisées de Pois; — par Tischler (1901) et Němec (1910) dans les cellules géantes des galles causées sur diverses Angiospermes par des *Heterodera*; — etc. Un exemple particulièrement remarquable en est fourni par les cellules polynucléées des racines des Euphorbiacées, étudiées par Smolàk (1904) et Němec (1910). Ces cellules sont d'abord uninucléées; ce noyau se divise par mitose en deux noyaux, qui se rapprochent. Puis ces deux noyaux entrent en prophase; ils s'éloignent alors l'un de l'autre, puis les quatre noyaux-fils issus de la mitose conjuguée s'accolent encore ensemble; — et ce processus d'éloignement avant les mitoses et de rapprochement des noyaux-fils qui en sont issus peut se poursuivre pendant plusieurs autres générations.

3. L'existence de noyaux particulièrement volumineux n'est pas non plus convaincante. En effet, contrairement à l'opinion de Tischler (1906a) il semble bien difficile d'admettre qu'un noyau se soit accru du double ou du triple de son volume, — pour ne pas aller plus loin —, sans quitter l'état quiescent. Des faits bien établis de ce genre sont, chez les Végétaux, très rares. Němec (1910), cependant, observe dans l'endosperme de *Colutea arborescens* des noyaux géants, produits, non pas par fusion, mais certainement par croissance, car leur taille croît régulièrement du micropyle à la chalaze. Mais ici il s'agit de noyaux répartis dans une masse de protoplasme très vaste, — d'une sorte de syncytium, et ce cas est entièrement différent de celui des cellules-nourricières, qui possèdent des membranes cellulosiques très développées et qui les isolent parfaitement les unes des autres. Or on tend de plus en plus à considérer la cellule comme un organisme en état d'équilibre, et dans lequel une variation assez faible de l'un des éléments de l'équilibre amène des modifications consistant particulièrement en des phénomènes de karyokinèse. En particulier, d'après les idées de R. Hertwig, la relation nucléoplasmatique jouerait un rôle fondamental dans la biologie cellulaire. Or on ne voit pas nettement de quelle manière accorder avec ces idées une croissance aussi considérable des noyaux, qui n'est pas compensée par un accroissement proportionnel du plasma, les cellules-tapètes étant comprimées entre les cellules-mères du pollen et les tissus de l'anthère, et ne pouvant par suite pas s'agrandir[1]).

[1]) Dans les cellules glandulaires on connaît à vrai dire des cas de pareils accroissements considérables du noyau, non suivis de mitose. Mais corrélativement il se produit dans ces cellules des phénomènes extrêmement spéciaux (apparition de filaments basaux, formation de grains de sécrétion, modifications bizarres dans la structure intime du noyau) (voir Maziarski 1910) qui attribuent à ces cellules en proie à un métabolisme

De plus, si l'on examine attentivement les coupes, on ne trouve pas d'intermédiaires entre les diverses tailles des noyaux. Examinons par exemple la figure 5. Si on représente par 1 le volume des plus petits noyaux que l'on y observe, on voit des noyaux de taille 2, de taille 4, de taille 8, mais pas des intermédiaires ménagés et continus. Or ce fait, très difficilement explicable par la théorie de l'amitose, l'est au contraire parfaitement en admettant des karyogamies.

4. Enfin l'existence de noyaux en forme d'ovoïde, de biscuit, de sablier, d'haltère, ou de noyaux portant un ou plusieurs bourgeons latéraux ne prouve rien, on l'a déjà vu, en faveur des phénomènes d'amitose, car ils s'expliquent de diverses autres manières:

a) les noyaux en forme d'ovoïde ou de biscuit par des fusions nucléaires:

b) les noyaux en forme de sablier (figs. 30a, 85), et de même certains noyaux bosselés (fig. 84) ou étranglés prennent naissance, on l'a vu, par des mitoses irrégulières;

c) Němec (1910) a observé que, dans l'endosperme de *Secale cereale* «die oktotriploïden Kerne erscheinen auch in ruhendem Zustande nicht selten amöboid« (comparer figs. 13, 53, 59, 61, 94, 95, etc).

Et de cette discussion nous pouvons tirer les conclusions suivantes: On n'a fourni aucune preuve satisfaisante de l'existence de l'amitose dans les cellules-tapètes. Tous les arguments apportés peuvent s'interpréter d'une manière différente. A vrai dire, on ne peut pas inversement fournir une preuve décisive de l'inexistence totale de la division directe; mais, en présence des phénomènes de fusions nucléaires et des apparences qu'elles nécessitent, des irrégularités karyokinétiques et des aspects qu'elles entrainent, et enfin des particularités présentées par les noyaux polydiploïdes, on peut à mon sens affirmer que dans les cellules-nourricières les phénomènes d'amitose jouent un rôle presque inexistant, sinon entièrement nul.

Et ceci vérifie une phrase de Strasburger (1882): »Alle Angaben über direkte Kernteilung bei höheren Pflanzen sind somit sehr kritisch zu prüfen« (p. 100 du tirage à part).

Wasielewski (1903) a distingué 4 types de division nucléaire, qui, dans un ordre croissant de complexité, sont:

---

excessivement intense une place tout à fait à part, et sur beaucoup de points ne les laissent pas de très près comparables aux cellules des tapètes plasmodiaux. L'étude des tapètes sécréteurs permettrait sans doute une compréhension plus nette des aspects que l'on découvre de part et d'autre, et serait à ce point de vue particulièrement intéressante.

a) Les diatmèses. La division nucléaire est causée par l'énergie propre de la membrane, qui s'étrangle au milieu de manière à amener finalement une scission; le contenu du noyau, sauf le nucléole, qui se divise en deux, ne joue pas de rôle actif.

b) Les diaspases. Après division du nucléole, le contenu chromatique s'ordonne suivant deux faces opposées du noyau, qui s'éloignent l'une de l'autre, de sorte que le noyau prend la forme d'une haltère. La barre d'union devient de plus en plus mince et finalement se brise, d'où deux noyaux. Donc ici c'est le contenu du noyau qui effectue réellement la division.

c) Les hémimitoses. Il y a formation des chromosomes, mais la membrane nucléaire, au lieu de se dissoudre, pour permettre à ces chromosomes leur évolution normale, s'étrangle au milieu, et le processus finit comme une diaspase.

d) Les mitoses.

Je ne discuterai pas ici la valeur de cette classification; mais en tout cas je crois qu'il est impossible de considérer comme représentant des diatmèses les apparences que j'ai décrites comme étant les étapes des karyogamies. Tout d'abord, dans les diatmèses observées par Wasielewski, il n'y a jamais concentration de la chromatine suivant un équateur du noyau, et dans les diaspases c'est aux deux pôles qu'a lieu cette concentration. D'autre part, dans les diatmèses et les diaspases, le nucléole se divise en deux; or jamais je n'ai observé de nucléoles en biscuit ni montrant des indices de bipartition. Et très souvent les deux noyaux accolés sont loin de présenter le même nombre de nucléoles.

A ce sujet, je dois dire qu'il me paraît illusoire de chercher à reconnaître, dans le cas qui nous occupe, les noyaux polydiploïdes par le nombre des nucléoles qu'ils contiennent, et qui dans ces noyaux volumineux paraît être essentiellement variable. Buscalioni (1898) n'a de même observé dans les noyaux géants de l'endosperme de *Vicia Faba* aucun rapport entre le nombre des nucléoles et celui des chromosomes (p. 38).

Ces fusions nucléaires, que je viens de décrire par le détail, avaient déjà été pressenties par quelques auteurs.

Strasburger, en 1878, avait décrit, dans diverses plantes (*Malva crispa*, *Thunbergia alata*, etc.) »schöne Kernfragmentationen«. Mais, en 1882, une étude plus approfondie lui fait envisager comme des étapes de karyogamies ces soi-disantes fragmentations amitotiques: après la division karyokinétique du noyau unique de chaque cellule-tapète, »die gebildeten Tochterkerne werden einander genähert, berühren sich, flachen sich gegeneinander ab, zeigen eine gemeinsame Wandung und sind nun

täuschend den sich durch Einschnürung theilenden Zellkernen ähnlich« (p. 99 du tirage à part).

Winkler (1906) observa que, lors de la prophase hétérotypique, chez *Wickstrœmia indica*, presque toutes les cellules-tapètes contiennent de deux à six noyaux; quelques-unes seulement en possèdent un seul, mais anormalement gros, et qui »wohl ohne Zweifel der Verschmelzung mehrere Teilkerne zu einem sein großes Volumen verdankt«. Ces synkaryons engendrent des mitoses hyperchromatiques, contenant parfois plusieurs centaines de chromosomes, le nombre normal étant de 52.

Strasburger (1909), chez la même plante, arrive aux mêmes conclusions. Gates (1907), chez *Œnothera lata*, observe des nids de noyaux, et comme à un stade plus avancé il n'en trouve plus qu'un ou deux dans chaque cellule il songe à des fusions nucléaires.

Geerts (1909) admet aussi la possibilité de ces karyogamies chez *Œnothera Lamarckiana*.

Tischler (1906 a) se demande si chez divers *Ribes*, en particulier chez *R. sanguineum*, il ne se produirait pas dans les cellules-tapètes des fusions nucléaires, car il a observé dans une figure mitotique 30 chromosomes environ, soit le double du nombre normal. En 1908, il fait la même supposition (p. 58) pour *Mirabilis Jalapa* × *M. tubiflora*.

On connaît dans des tissus végétaux assez divers des karyogamies sans caractère sexuel; et soit dans les conditions normales de la vie, soit sous des influences pathologiques.

Des fusions nucléaires interviennent normalement entre les noyaux pariétaux, dans l'endosperme de nombreuses Angiospermes: *Corydalis cava* (Strasburger 1880, Tischler 1900), *Corydalis pumila* (Němec 1910), *Fritillaria imperialis* (Dixon 1896, Saame 1906), *Capsella bursa pastoris* (Rosenberg 1901), *Zostera marina* (Rosenberg 1901), *Tulipa Gesneriana* (Ernst 1901), *Secale cereale* (Němec 1910), etc. — Et ces fusions peuvent être amenées à se produire de 3 manières différentes:

a) Dans *Corydalis*, *Tulipa*, etc., lorsque, les parois du sac embryonnaire étant tapissées d'une couche continue de noyaux réunis entre eux par des phragmoplastes, il se forme des cloisons centripètes, il arrive que dans une même alvéole sont isolés plusieurs noyaux (jusqu'à 7). Ceux-ci alors se fusionnent.

b) Dans *Secale cereale*, chaque cellule ne contient à l'origine qu'un seul noyau; mais plus tard celui-ci se divise sans qu'il se différencie de parois entre les noyaux-fils, et alors il y a fusion. Ce cas est donc plus proche encore de celui des cellules-tapètes.

c) Dans *Zostera marina*, *Agrostemma Githago* (Němec 1910), les fusions s'effectuent avant même que les cloisonnements centripètes n'aient commencé à se produire.

Il s'effectue de même certainement des karyogamies dans l'albumen parthénogénétique du Caprifiguier. En effet, d'après Leclerc du Sablon (1900), lorsque, sous l'excitation causée par la ponte du Blastophage, le noyau secondaire se divise, il se forme à la périphérie du sac embryonnaire un tapis de noyaux, disposés dans ce cas particulier sur plusieurs assises; puis il se différencie des cloisons albuminoïdes délimitant des alvéoles contenant chacune de 1 à 4 noyaux et davantage. A un stade plus avancé, «les noyaux sont moins nombreux dans chaque cellule. On constate que les noyaux deviennent plus gros et de forme irrégulière; quelques-uns renferment plusieurs nucléoles.» Et l'auteur a été frappé «du nombre très considérable de filaments achromatiques formant le tonnelet» des figures mitotiques. Ces apparences ne peuvent évidemment s'expliquer que par des karyogamies entraînant des mitoses hyperchromatiques.

Il en est de même dans *Adoxa moschatellina*, d'après Lagerberg (1909), comme le prouve la figure 17 du texte (p. 64), qui est sensée représenter des amitoses.

Ces phénomènes karyogamiques dans les endospermes doivent d'ailleurs aller très loin, car Buscalioni (1898) a observé dans la région chalazienne du sac embryonnaire et dans l'albumen pariétal de *Vicia Faba* et de *Phaseolus multiflorus* des noyaux énormes, de dimensions oscillant de 180 à 300 μ et plus, visibles à l'œil nu, les plus gros connus chez les Végétaux (p. 21).

On connaît aussi de nombreux cas de fusions nucléaires se produisant dans des cellules mises préalablement dans un état pathologique par des agents divers. Blazek (1902) et Nemec (1904) en observent dans les racines de Pois traitées par les vapeurs de benzol, Němec dans les racines de Fève traitées par une solution de sulfate de cuivre, dans les cellules-mères du pollen et dans les grains de pollen de *Larix decidua* traités par le chloroforme (1910), Nemec (1904, 1910), Strasburger (1907), et Kemp (1910) dans les racines chloralisées de diverses Angiospermes. Němec d'ailleurs se refuse à considérer comme pathologiques ces karyogamies se produisant dans des cellules anormales. Ce qu'il considère comme pathologique, c'est la multiplication des noyaux dans une même cellule sans formation de cloisons; — les fusions consécutives ne lui apparaissent que comme un phénomène de régularisation amené par cet état polynucléé, mais non pas directement causé par l'influence des agents chimiques.

Il se produit encore des karyogamies très frappantes dans les cellules géantes dont les *Heterodera* amènent la formation dans les méristèmes des racines où ils s'enfoncent. Les noyaux de ces cellules se multiplient par des mitoses répétées, de sorte que, dans *Vitis gongylodes*, par exemple, il finit par exister plus de 500 noyaux dans chacune de ces cellules hypertrophiées. Ces noyaux ensuite se rapprochent en formant un ou plusieurs amas; chacun de ces noyaux émet un prolongement qui se dirige vers le centre de l'espèce de mûre que forment ces noyaux accolés, et on obtient ainsi sur les coupes des images en forme de rosette. Et finalement il n'existe plus que un ou deux noyaux dans chaque cellule.

Chez les Animaux, on connaît aussi des phénomènes de fusions nucléaires extrasexuelles. Je me bornerai à signaler deux cas:

Lécaillon (1910) observe, au cours de la dégénérescence de l'œuf parthénogénétique de la Poule, des mitoses possédant plus de 80 à 100 chromosomes, le nombre diploïde étant 24. Elles sont donc très hyperchromatiques. L'auteur ne se prononce pas sur la cause première de cette hyperchromaticité. On peut l'expliquer, soit par des phénomènes répétés de division des chromosomes, analogues à ceux que Flemming, Hansemann, etc., ont observé dans les carcinomes, ou par des karyogamies. Certaines figures de l'auteur (figs. 19, 54, 55, etc.) justifieraient cette dernière interprétation.

E. Godlewski junior (1910) signale aussi des fusions nucléaires au cours de la régénération de la queue, chez les Amphibiens.

Enfin on peut considérer comme des karyogamies, se produisant après chaque karyokinèse et sur une grande échelle, la fusion des karyomères en un noyau unique, telle que Grégoire et Wygaerts (1903) l'ont observée chez *Trillium grandiflorum*, Nemec (1910) chez *Chara fragilis*, Bonnevie (1909) chez *Nereis*, etc.

On peut se demander si, dans les tissus où on les observe, ces fusions nucléaires sont un phénomène nécessaire, régulier et inévitable, de même que par exemple la karyokinèse comme procédé de reproduction des cellules en voie d'accroissement normal, ou si au contraire elles ne constituent que des phénomènes irréguliers, facultatifs.

A ce sujet, il semble y avoir des variations, suivant les cas que l'on considère. Ainsi, dans les racines chloralisées de *Lilium candidum*, (Němec 1910), les fusions s'effectuent ou non, suivant la position occupée par la cellule envisagée. Les karyogamies apparaissent également comme

rares dans les racines chloralisées de *Cytisus* (Strasburger 1907), de *Ricinus* (Němec 1910). De même, dans les cellules plurinucléées des Euphorbiacées, et chez les Ascomycètes, les Basidiomycètes et les Copépodes, deux noyaux persistent longtemps dans une même cellule sans se fusionner.

Mais dans d'autres cas au contraire les fusions nucléaires apparaissent comme des phénomènes normaux, inévitables, dirais-je presque. Ainsi Němec (1910) les considère comme »eine obligate Erscheinung« (p. 105) dans l'endosperme de *Secale cereale*. Il en est de même dans les endospermes de *Agrostemma Githago*, *Corydalis*, etc. Mais ces fusions ne sont pas une règle générale de la biologie des albumens des Angiospermes, car il est des plantes (*Ranunculus ficaria*, *Senecio vulgaris*, *Lamium album*) dans lesquelles elles ne s'effectuent pas (Němec 1910). Mais d'ailleurs ce n'est pas là un fait qui ait de la valeur en lui-même, car cette absence de karyogamies tient simplement à ce que les cloisons cellulosiques se forment très régulièrement entre chaque noyau, de manière à n'engendrer que des cellules uninucléées (de même que dans l'albumen normal, non parthénogénétique, du caprifiguier — Leclerc du Sablon 1900). Et lorsque par hasard plusieurs noyaux se trouvent réunis dans une même cellule, ils se fusionnent.

Ces karyogamies me paraissent être une règle absolue dans les cellules-tapètes. Et ceci me semble évident, vu le nombre extrêmement considérable des noyaux plus volumineux que normalement que l'on aperçoit, à partir d'un moment donné, dans l'assise nourricière, (la figure 5, qui ne représente pas le moins du monde une coupe privilégiée à ce sujet, le prouve surabondamment), d'une part, — et d'autre part, par suite de ce fait qu'il devient alors presque impossible de trouver des mitoses qui ne soient pas hyperchromatiques. De même Rosenberg (1899), je l'ai déjà dit, pense que la division des deux noyaux F_2 peut dans le *Drosera* s'effectuer par deux procédés:

a) dans la minorité des cas par mitoses conjuguées;

b) dans la majorité des cas par amitose. Et il est amené à cette idée par le très grand nombre de noyaux en biscuit qu'il a observés. Ici donc encore, ces apparences tenant à des phénomènes de fusion, celles-ci deviennent très tôt une règle dans l'assise nourricière.

Cela d'ailleurs est tellement vrai que, dans les derniers moments où l'assise nourricière possède son intégrité, alors que sa face interne commence déjà à se désagréger, ses cellules sont presque toujours uninucléées, très rarement binucléées, ces noyaux possédant une taille remarquable (*Datura*, *Hyoscyamus*). Et c'est là un fait très général, car toutes les

cellules d'une coupe donnée, et non pas seulement quelques-unes, sont dans cet état. Il en est de même, d'après Gates (1907) chez *Œnothera lata*, où "the tapetal cells return to a binucleate, or even uninucleate condition" (p. 86).

Cependant dans d'autres plantes (*Mirabilis*, *Cobœa*) ces fusions ne se poursuivent pas d'une manière régulière, de façon à rendre finalement à la cellule son état uninucléé, puisque dans nombre de cas les auteurs ont trouvé dans les cellules-nourricières en voie de désintégration un nombre très considérable de vésicules nucléaires. Les choses à ce point de vue doivent donc varier suivant les plantes envisagées. Il faut sans doute aussi admettre que les fusions se produisent de plus en plus difficilement, à mesure que les noyaux qui peuvent se fusionner deviennent d'une valence plus élevée. En effet, d'après Němec (1910), dans les racines de *Lilium candidum*, les noyaux didiploïdes se fusionneraient moins facilement que les noyaux diploïdes.

Et ainsi donc il y aurait à chaque instant dans chaque cellule-tapète antagonisme entre les karyogamies, tendant à réduire sans cesse le nombre des noyaux présents dans chaque cellule, et à centrer à nouveau celle-ci autour d'un noyau unique, — et les phénomènes mitotiques et les fragmentations karyokinétiques, tendant au contraire à multiplier sans cesse le nombre des noyaux. Dans certains cas les karyogamies l'emporteraient, et finalement la cellule redevient alors uninucléée. D'autres fois ce seraient les phénomènes de morcellement, et la cellule devient polynucléée.

Dans les cellules-tapètes, les fusions ne s'effectuent qu'entre noyaux très proches parents, frères ou cousins. Il en est de même dans l'endosperme de *Secale cereale*, où ce sont les noyaux contenus dans une même alvéole cellulosique, mais issus de la division du noyau primitivement unique de chacune de ces alvéoles, qui se conjuguent. Mais il n'en est point toujours ainsi, et les gamies se produisent aussi entre noyaux de parenté très éloignée: par exemple dans *Corydalis* ce sont de tels noyaux que les hasards des cloisonnements réunissent dans une même loge cellulosique; de même dans *Agrostemma Githago*, où les fusions s'effectuent avant même que les cloisonnements centripètes n'aient débuté. Ces faits sont importants au sujet de la comparaison de ces fusions avec les karyogamies sexuelles.

On sait encore très peu de choses sur les causes profondes déterminantes de ces fusions. Il est en effet étrange de voir dans certains cas (cellules plurinucléées des Euphorbiacées), plusieurs noyaux persister dans

une même masse plasmatique sans qu'il se produise de conjugaisons, au moins de manière normale, — tandis que dans d'autres cas ces gamies se produisent, avec une intensité d'ailleurs variable. Je ne referai pas la discussion de toutes les hypothèses permises. On la trouvera dans l'ouvrage de Němec (1910). Mais je crois que, en ce qui concerne plus spécialement les cellules-tapètes, il faut peut-être à ce sujet attacher une grande importance à certaines idées de Boveri (1905). Boveri pense en effet qu'un facteur particulièrement important dans la cellule est le rapport entre le volume du plasma et la surface du noyau, et que cette dernière a une très grande signification dans la biologie cellulaire. Si en effet cette surface augmente, les échanges entre le protoplasme et le noyau peuvent, leur intensité ne variant pas, devenir plus considérables. C'est l'inverse, évidemment, si la surface du noyau diminue. Or à volume égal plusieurs petits noyaux ont une plus grande surface qu'une seule grosse vésicule nucléaire. Et d'autre part on ne saurait expliquer les caryogamies par des variations du rapport du volume du plasma au volume des noyaux (K/P) (R. Hertwig), car deux noyaux qui se fusionnent ne voient pas varier leurs volume total. Au contraire les fusions nucléaires, réduisant la superficie des noyaux, tendent par là-même à réduire l'intensité des échanges nucléo-plasmiques[1]).

Somme toute, ces fusions aboutissent à la formation de noyaux anormaux, puisqu'ils possèdent un nombre de chromosomes bien supérieur au nombre diploïde. Or Němec (1904, 1910) soutient avoir observé des apparences que l'on ne peut interpréter que comme des phénomènes de réduction chromatique, s'opérant d'ailleurs suivant des modes assez divers, mais parfois proches du mode hétérotypique, dans les tissus contenant des noyaux syndiploïdes. Il est sur ce point très vivement contredit par Strasburger (1907, 1911), qui interprète d'une manière toute différente les images obtenues par Němec. Je ne discuterai pas les figures de ces auteurs, pas plus que les déductions qu'ils en tirent au point de vue de la biologie générale; on trouvera ces discussions dans l'ouvrage de Němec (1910) et dans le récent mémoire de Strasburger (1911).

---

[1]) Je dois dire à ce propos que j'ai essayé à plusieurs reprises d'effectuer des mesures des quotients nucléoplasmiques, soit au sens de Hertwig, soit au sens de Boveri. J'effectuais les mesures et les calculs en me basant sur les données de Tischler (1906b) (p. 88—89), et de Gates (1909) (p. 530—533). Je n'ai pas obtenu de résultats satisfaisants, les chiffres obtenus pour la valeur de ces rapports variant du simple au double et même au triple. Cet échec est dû, à mon avis, non pas au mal-fondé des théories en question, mais à la forme irrégulière des cellules et des noyaux, qui entraîne des erreurs considérables dans les évaluations.

Mais, personnellement, je n'ai jamais observé d'apparences que l'on puisse rapporter à une réduction du nombre des chromosomes, et Strasburger (1909) chez *Wickstrœmia*, pas davantage[1]).

c) La mort des noyaux.

En dehors des modifications ci-dessus étudiées, et qui ont trait à la physiologie des noyaux, il s'en produit d'autres, qui se rapportent à leur morphologie. Celles-ci apparaissent postérieurement aux premières, et ceci se conçoit. Elles atteignent en effet profondément la structure intime des noyaux, et semblent les rendre incapables d'accomplir les actes qui leur sont dévolus. Aussi ces modifications ne se montrent que vers la fin de la vie des cellules-tapètes, alors que toute manifestation physiologique nucléaire y a cessé, et elles sont suivies à brève échéance de la dislocation et de la disparition complète des noyaux.

Les phénomènes de dégénérescence nucléaire ont été étudiés par de nombreux auteurs, et sur des objets très divers. En particulier, la spermatogénèse a fourni à Flemming, Hermann, Heidenhain, Drüner, P. Bouin, etc., quantité de documents y relatifs.

On peut grouper autour de quatre types principaux les diverses formes de la dégénérescence nucléaire:

1. La karyorrhexis. Le réseau chromatique se disloque, et la chromatine se répartit en boules de dimensions très variables; puis celles-ci

---

[1]) Je rapporterai ici une observation de Buscalioni (1898), qui ne paraît pas avoir attiré l'attention des auteurs, et qui me semble avoir une grande importance pour la solution de ce problème. Cet auteur dit (p. 37): «Abbanstanza frequentemente ho pure riscontrato il precoce spezzettamento longitudinale dei cromosomi che talora può aver luogo fin dalle fasi iniziali del processo cariocinetico (fig. 46, tav. XVI); — come singolarissima particolarità, per altro molto rara, debbo pure notare che può avvenire anche una seconda bipartizione longitudinale dei due cromosomi secondarî tanto che si originano dei fascetti di cromatina, ognuno dei quali presentati costituito da quatro cromosomi cementati della linina (fig. 43A, tav. XVI).»

La figure de l'auteur (relative, de même que la fig. 46, à *Vicia Faba*), fait absolument songer à des gemini hétérotypiques. Buscalioni ajoute: «Nei pochi casi in cui mi fu dato di osservare la tripartizione io non ho potulo seguire l'ulteriore sorte dei cromosomi e non posso quindi portare un giudizio sul significato della stessa.» Buscalioni rapproche cette apparence de celle que signala vom Rath dans la spermatogénèse de *Gryllotalpa vulgaris* (segmentation précoce des gemini hétérotypiques), et il ajoute: «Ciò nondimeno credo utile di segnalare l'analogia che si verifica tra le mie osservazioni e quelle di quest' autore e di rilevare in pari tempo che la tripartizione precoce dei cromosomi non deve quindi esser considerata come un fenomeno collegato esclusivamente coi processi di fecondazione, potendo essa manifestarsi anche in quelli puramente vegetativi.»

se dissocient en très petits granules qui peuvent passer dans le cytoplasme, en traversant la membrane nucléaire. Là, ces granulations se dissolvent et finissent par disparaître complètement.

2. La pyknose. Le réseau chromatique se rétracte, perd souvent toute connexion avec la membrane nucléaire, et forme en s'agglomérant sur lui-même une masse qui devient peu à peu homogène, à surface plus ou moins granuleuse, et qui fixe d'une manière uniforme les colorants basiques. Parallèlement, la membrane nucléaire, sans doute par échappement au dehors de suc cellulaire, perd de sa turgescence; par suite le noyau diminue de volume; il retient de plus en plus uniformément les teintures, sauf parfois un espace incolore entre la membrane et la masse chromatique centrale (état pyknomorphique du noyau). Finalement l'agglomération centrale de chromatine se dissout peu à peu. Son affinité pour les colorants basiques devient plus faible; puis il se fait des modifications profondes dans la texture intime de la chromatine, car le noyau ne fixe plus que les colorants acides. Enfin le processus finit comme une karyorrhexis: il y a dislocation de l'agglomération centrale, puis passage dans le plasma et dissolution des granules ainsi formés.

3. La karyolyse ou chromatolyse. La chromatine, sans prendre de forme figurée spéciale, se dissout peu à peu dans le suc nucléaire. Ceci amène une coloration très forte de tout le noyau, et aussi du plasma, par phénomènes d'imbibition. La chromatine perd ensuite progressivement ses propriétés morphologiques et chimiques. Le noyau fixe de moins en moins les colorants basiques, puis ne retient que les teintures acides, et enfin se confond entièrement avec le cytoplasme.

4. Dégénérescence vacuolaire. Il apparaît dans le noyau une ou plusieurs vacuoles, qui s'accroissent et occupent bientôt presque toute la vésicule nucléaire. Ces vacuoles refoulent entre elles le réseau chromatique, qui se disloque, se segmente, et la chromatine disparaît peu à peu de l'intérieur du noyau.

Enfin je signalerai un mode de dégénérescence très spécial:

5. Dégénérescence par hypertrophie nucléolaire. Ce processus a été observé par Gueysse (1907) dans les cellules de l'hépato-pancréas des Crustacés Décapodes. Dans les noyaux qui dégénèrent, il se produit une hypertrophie du nucléole. Celui-ci, à mesure que sa taille augmente, repousse la chromatine, qui se dissocie en granules qui s'appliquent contre la membrane nucléaire. Le nucléole devenu énorme émet ensuite des prolongements qui atteignent la membrane nucléaire et s'y appliquent; il prend alors une forme astéroïde et remplit de plus en plus la cavité nucléaire. Corrélativement les granules chromatiques se segmen-

tent en grains plus petits qui finissent par disparaître complètement. Le noyau est alors bourré par la substance nucléolaire, devenue spongieuse, et peu distincte du plasma environnant. Von Voss (1910) a observé un processus de dégénérescence analogue dans certains œufs des cul-de-sacs ovariens de *Echinorhynchus proteus* Westr. La membrane nucléaire disparaît très tôt; le filament chromatique se segmente en tronçons qui se répandent dans le cytoplasme, et le nucléole, »der riesenhafte Dimensionen angenommen hat, scheint das gesamte Chromatin des Kernes in sich aufzunehmen.« (p. 446). Puis les tronçons du ruban nucléaire se transforment en corps arrondis qui se fusionnent peu à peu avec le nucléole. — Ehrlich (1909) a également observé des phénomènes semblables, au cours de la dégénérescence des cellules de l'épithélium intestinal de l'*Ascaris*.

Tous ces modes de dégénérescence ont donc pour caractéristique commune que la substance chromatique, après avoir subi quelques modifications régressives, disparaît plus ou moins rapidement de la cavité nucléaire, et se dissout peu à peu dans le plasma.

Ces divers processus, exeption faite du mode si spécial de dégénérescence par hypertrophie du nucléole, se rencontrent dans les cellules-nourricières.

Le *Cobœa scandens* offre un bel exemple de karyorrhexis. Les figures d'un précédent travail (1911d) en fournissent des exemples: on voit, dans les noyaux de toutes les figures, qui représentent des cellules très avancées en développement, comme le montrent la multiplicité des noyaux et la disparition partielle des membranes cellulosiques, que la chromatine est répartie, de préférence à la périphérie de la cavité nucléaire, sous forme de boules assez peu volumineuses, non réunies entre elles. Il ne m'a pas paru se produire ensuite une dislocation de ces boules en granules de petite taille qui passeraient dans le plasma et s'y dissoudraient. Comme le montre la figure 5, la membrane nucléaire ne disparaît que plus tard, et ces boules dégénèrent sur place en gardant leur taille normale.

Cette karyorrhexis est d'ailleurs compliquée de karyolyse, comme mes figures le montrent aussi. On voit que peu à peu la chromatine retient de moins en moins fortement la laque d'hématoyxline (comparer par ex. les figures 2, 7 et 8); et, lorsque la membrane nucléaire disparaît, les granulations chromatiques ne sont guère plus colorées que le plasma lui-même.

L'Hellébore offre les mêmes apparences avec netteté. Ici encore, le réseau nucléaire, qui à l'état normal a la forme d'un boyau très long et enroulé sur lui-même en tours très serrés, avec des anastomoses se-

condaires, se disloque en nombreuses granulations, de dimensions très variables, qui, après disparition de la membrane, dégénèrent sur place.

Chez *Hyoscyamus albus*, on peut observer, à côté des phénomènes de karyorrhexis, des phénomènes de pyknose typiques. Les figures 104 et 109 montrent deux noyaux-tapètes pyknomorphiques de ce végétal. La chromatine est condensée en une masse à surface onduleuse et irrégulière, accolée à la membrane nucléaire; le reste de la vésicule nucléaire est entièrement incolore. Dans les deux cas, cet amas de chromatine a été sectionné par le rasoir, et il montre une structure hétérogène: le cortex retient plus fortement la laque d'hématoxyline que le noyau central. Dans la figure 105, il existe encore deux minces traînées chromatiques qui relient, à travers le suc nucléaire, ce globule de chromatine à la membrane nucléaire, sur la face opposée.

On ne saurait malgré les apparences songer à voir là une contraction synaptique analogue à celle que subissent les noyaux des sporocytes, vu l'aspect homogène, gélatineux pour ainsi dire, que présente cet amas de chromatine, et l'absence totale de nucléole différencié, celui-ci s'étant fondu lui aussi dans ce globule amorphe, — apparences qui contrastent vivement avec l'aspect irrégulier et grenu des grumeaux synaptiques véritables, et qui montrent bien que l'on a à faire ici avec une masse dégénérescente. Ces aspects sont d'ailleurs extrêmement semblables, sauf l'accolement local du grumeau pyknotique à la membrane nucléaire, aux noyaux pyknomorphiques typiques (voir par ex. les figures 3 et 41 du mémoire de Pérez 1910).

Dans le *Fuchsia*, il semble aussi, au moins dans certains cas, s'effectuer des transformations pyknomorphiques analogues, ici encore compliquées de chromatolyse subséquente.

Quant à la Belladone, elle offre des phénomènes tout à fait remarquables de dégénérescence vacuolaire. La figure 97 représente le début de la vacuolisation d'un noyau. On voit que celui-ci est hypertrophié au point d'occuper presque tout le volume de la cellule; il possède 3 gros nucléoles et un plus petit, et est parsemé de granules de chromatine de petite taille et répartis uniquement à sa périphérie, contre la membrane nucléaire.

La figure 99 représente un stade ultérieur. Le noyau a été sectionné par le rasoir. Il est extrêmement volumineux, et possède plusieurs gros nucléoles occupant des positions excentriques. La membrane nucléaire est toute piquée de granules de chromatine de très petite taille. Tout l'intérieur du noyau est occupé par un liquide homogène, dans lequel on voit des masses irrégulières, fortement colorées, sans connexions avec

la membrane, et qui sont certainement des masses de chromatine en voie de dégénérescence.

Celle-ci gagne peu à peu les nucléoles et la chromatine demeurés encore intacts, et finalement on ne voit plus, dans le suc nucléaire transparent, que des corps plus ou moins rubannés et aplatis, irréguliers et fortement colorés en noir, restes de la chromatine. Puis la membrane du noyau disparaît, et ces masses amorphes dégénèrent sur place et se dissolvent peu à peu.

Souvent cette vacuolisation et cette dégénérescence nucléaires sont en connexion avec des phénomènes de vacuolisation très intenses qui se produisent en même temps dans le plasma, et sur lesquels d'ailleurs je reviendrai plus tard. Et ces phénomènes, en se conjuguant et réagissant l'un sur l'autre, entraînent des apparences assez spéciales.

La figure 100 montre des aspects ainsi amenés. Dans la cellule de droite les deux noyaux sont inclus dans une volumineuse vacuole formée dans le cytoplasme. Ces deux noyaux présentent d'ailleurs déjà tous deux des phénomènes de dégénérescence: la chromatine est agglomérée en amas irréguliers, et la membrane nucléaire est déjà très indistincte. Dans la cellule de gauche, se trouve, au sein d'une vacuole absolument libre de toute trace de cytoplasme et nettement creusée dans celui-ci, des corps irréguliers et dentelés, très fortement colorés en noir: ce sont évidemment les restes de un ou plusieurs noyaux ayant subi une évolution dégénérative semblable à celle de ceux que l'on voit dans la cellule de droite, mais plus avancée.

Dans la figure 102, la vacuole plasmique, au lieu d'entourer complètement le noyau, ne l'a attaqué que sur un côté, et le noyau n'est digéré qu'à moitié. Sa partie encore intacte, et qui d'ailleurs paraît être au contact direct de la vacuole, la membrane nucléaire ayant disparu entre les deux, montre des signes très nets de karyorrhexis; dans la vacuole se voient des corps de dégénérescence de la chromatine.

Il en est de même dans la figure 101; mais ici un seul des noyaux de la cellule est attaqué par la vacuole; l'autre est encore intact, quoique déjà fortement marqué de karyorrhexis. Il existe donc un certain synchronisme dans la dégénérescence, mais pas absolu.

Enfin, dans la figure 98, la vacuole cytoplasmique a des proportions colossales, et réduit le protoplasme à une mince couche périphérique, intimément appliquée contre la membrane cellulosique de la cellule, et parcourue par un système fibrillaire puissant, isolant des alvéoles polygonales. Dans la vacuole existent des corps noirs, irréguliers, représentant sans doute des résidus de la chromatine des noyaux de cette cellule.

De ces divers modes de dégénérescence nucléaire, le plus fréquent de beaucoup semble être la karyorrhexis, qui a été déjà signalée dans les noyaux des cellules-nourricières par plusieurs auteurs: Beer (1905), Rosenberg (1899), Tischler (1906a) etc. En revanche les phénomènes de pyknose n'y avaient pas à ma connaissance encore été observés —, au moins sous une forme aussi typique, pas plus que le processus de dégénérescence par vacuolisation.

B) Les modifications plasmatiques.

Corrélativement aux modifications nucléaires, le plasma des cellules-nourricières subit, à mesure que le processus de dégénérescence s'accentue, des transformations.

a) La vacuolisation.

De ces modifications, celles qui apparaissent les premières ont trait à la texture du protoplasme.

Un fait depuis longtemps signalé est l'abondance et la densité du plasma des cellules-tapètes jeunes; au début de leur évolution, elles sont bourrées d'une matière épaisse et granuleuse, sans vacuoles; — lorsqu'elles ont atteint leur état adulte, leur cytoplasme a une structure fibrillo-granuleuse, les fibrilles dessinant des réseaux qui circonscrivent de petites alvéoles polyédriques. Avec l'âge, certaines trabécules se disloquent et disparaissent, amenant la fusion de plusieurs alvéoles ensemble. Ce phénomène continuant, le plasma se vacuolise, et cette vacuolisation peut être poussée plus ou moins loin, suivant les espèces que l'on envisage. Dans beaucoup de cas elle donne seulement au cytoplasme l'aspect d'une masse spongieuse de fibrilles anastomosées. Dans la Jusquiame par exemple c'est cette apparence que l'on observe. Dans le *Fuchsia* le protoplasme présente des alvéoles ovoïdes qui laissent entre elles des espaces occupés par du plasma fibrillaire. Mais dans quelques cas ce phénomène va beaucoup plus loin, et amène la formation de cavités pleines de suc cellulaire, et dans l'intérieur desquelles il n'y a plus trace de filaments plasmiques. Tischler (1908) dessine de pareilles vacuoles chez *Mirabilis*, Meves (1904) chez *Nymphœa*, Geerts (1909) chez *Œnothera Lamarckiana*, Lewitsky (1911) chez *Asparagus*. La figure 113 les montre dans le *Datura*.

Ce phénomène d'alvéolisation est poussé à l'extrême chez *Atropa Belladona*, plante chez laquelle il se produit de très bonne heure au cours de l'évolution. La figure 15b montre une série de cellules-tapètes encore jeunes, puisque le noyau ne s'y est pas encore divisé; et cependant dans

le plasma il existe déjà des vacuoles énormes, qui même, dans certaines cellules, compriment le noyau, soit entre elles, soit entre elles et la membrane, et lui font prendre une forme irrégulière. Ces modifications sont encore bien plus accusées sur les figures 108, 109 et 110; certains noyaux, écrasés par la pression qu'exerce le suc cellulaire contenu dans ces alvéoles, sont entièrement déformés et ont pris la forme d'un T, d'une haltère, etc. Cependant ces noyaux ne paraissent pas atteints dans leur intégrité, car ils peuvent encore se diviser: dans la figure 108 le noyau est en spirème; il en est de même pour 3 noyaux de la figure 110; — et, dans les figures 109 et 110, on voit des karyokinèses. Par conséquent, quoique le cytoplasme présente déjà des signes accentués de désintégration, ces noyaux sont encore intacts, ou au moins peu atteints, comme le prouve la capacité qu'ils possèdent encore de se reproduire.

Coulter et Chamberlain (1903) dessinent de pareilles vacuoles, très volumineuses, dans les cellules-tapètes de *Scrophularia nodosa* (fig. 56, p. 125).

b) Les formations chromidiales.

En dehors de ces modifications texturales, il se produit dans le plasma d'autres transformations, encore plus remarquables, et qui se traduisent par l'apparition de certaines formations qui ne se voyaient pas auparavant.

Parmi ces formations, j'établirai, en me restreignant étroitement à celles qui ont jusqu'ici été observées dans les cellules-nourricières, deux grandes catégories: d'une part les formations ergastoplasmiques; — de l'autre les formations chromidiales.

Je ne m'étendrai pas sur les formations ergastoplasmiques; je leur ai en effet déjà consacré une longue étude (1911d), à laquelle je n'ai rien à ajouter. Je rappellerai simplement que des différenciations ergastoplasmiques typiques s'observent dans les cellules-nourricières du pollen de *Cobœa scandens*, — d'une manière absolument constante —, et qu'elles y sont imprégnées d'une matière qui se colore par les teintures de la chromatine.

Mais en revanche je parlerai un peu longuement des formations chromidiales, à cause des rôles très importants que divers auteurs leur prêtent, aussi bien chez les Végétaux que chez les Animaux, et de l'importance que depuis quelques années on est porté à leur attribuer. Ce terme général de formations chromidiales n'est, il est nécessaire de le spécifier, qu'une expression abrégée, ne préjugeant rien a priori sur la nature, l'origine, l'évolution et le rôle des différen-

ciations qu'il sert à désigner, ni même sur leur parenté ni leur similitude[1]).

Depuis déjà longtemps connues chez les Animaux (Von la Valette Saint-George, Benda, Meves), les formations chromidiales furent découvertes, chez les Végétaux, dans les cellules-nourricières du pollen de *Nymphæa alba*, par Meves, en 1904. Dans ces cellules, après fixation au Flemming et coloration par l'hématoxyline de Heidenhain, apparurent, dans le cytoplasme vacuolaire, des filaments d'épaisseur constante, longs, contournés irrégulièrement sur eux-mêmes, colorés en noir intense, qui, dans la plupart des cellules, étaient agglomérés en un ou deux amas. Meves les assimila sans hésiter aux chondromites connus chez les Animaux et leur assigna précisément ce nom.

En 1906, Tischler retrouva de pareilles formations, à caractères absolument semblables, dans divers Groseilliers (*Ribes Gordonianum*, *sanguineum*, *intermedium*). Elles y apparaissent lorsque les cellules-tapètes sont déjà polynucléées, et retiennent avec une telle force la laque d'hématoxyline qu'elles sont particulièrement nettes lorsque tout dans le noyau est décoloré, sauf les nucléoles. Tischler aussi mit sans hésitation ces formations en parallèle avec les formations chromidiales des cellules animales; mais, au lieu de les rapprocher, comme Meves, des chondriosomes, il les compara aux chromidies récemment découvertes par Goldschmidt chez l'*Ascaris*.

En 1908 (p. 97) Tischler retrouve ces formations chromidiales dans *Syringa chinensis*.

Beer (1905) les signala dans *Œnothera biennis* et *Œ. longiflora*, Gates (1907) dans *Œ. lata* × *Œ. Lamarckiana*, Geerts (1909) chez *Œ. La-*

[1]) La nomenclature devenant dans ces questions de plus en plus complexe, par suite de la grande quantité de termes, de sens souvent presque équivalents, que créent les divers auteurs, je crois bon de la rappeler ici succinctement, d'après M. Heidenhain (1911) (p. 1079):

Benda a appelé mitochondries les cytomicrosomes qui passent dans le filament spiral des spermatozoïdes; ces filaments forment souvent des chaînes qu'il appela chondromites. Les mitochondries et les chondromites furent retrouvés dans les cellules somatiques. Lorsque à l'intérieur de ces chaînes les divers microsomes ne se laissent pas distinguer, de sorte que le filament retient uniformément les colorants et paraît homogène, on a les pseudochromosomes (Heidenhain) ou chondriokontes (Meves). Les mitochondries, chondromites et chondriokontes sont désignés sous le terme collectif de chondriosomes. Un réseau filamenteux formé de chondromites est un chondromitome.

Enfin on appelle chromidium, filaments chromidiaux, formations chromidiales sensu strictiori, les différenciations dont le type est fourni par celles qu'a découvertes Goldschmidt (1905) chez l'*Ascaris*.

marckiana, von Derschau (1907) chez *Lilium Martagon*, *Iris germanica*, Lewitsky (1911) chez *Asparagus officinalis*, Beer (1911) chez *Ipomœa purpurea*.

Comme je l'ai déjà brièvement signalé (1911 b), j'ai observé des formations chromidiales dans un certain nombre des plantes que j'ai étudiées: *Yucca*, *Fuchsia*, *Datura*, *Helleborus*.

La figure 111 représente ces formations chez *Yucca*. Ce sont des filaments, plus ou moins amincis aux deux bouts, épars dans la cellule. Çà et là ils sont mélangés à des corps colorés en noir, plus irréguliers, plus épais et plus courts, et à des différenciations en forme d'anneau, sur lesquelles je reviendrai plus tard. La figure 113 les montre dans le *Datura*. Les cellules sont redevenues uni- ou binucléées; leur forme est irrégulière, et leur plasma vacuolisé; et dans toute leur étendue on observe des filaments serpentiformes, qui ne pénètrent jamais dans les alvéoles du corps cellulaire.

L'Hellébore fournit des apparences absolument semblables à celles que donne le *Yucca*. Les formations chromidiales y sont particulièrement abondantes, et les cellules en sont absolument bourrées, dès la prophase de la division hétérotypique.

La figure 107 représente les chromidies dans le *Fuchsia*. Il est intéressant de remarquer qu'elles sont filiformes et montrent une tendance à se grouper par touffes, ce qui constitue une ressemblance avec les formations ergastoplasmiques. Mélangés à ces formations, on observe encore des corps en forme d'anneau, de même que dans le *Yucca*, et des granules noirs de tailles diverses.

Je n'ai dans aucune espèce observé pour ces formations des places de prédilection, contrairement à ce que Goldschmidt (1905) a vu dans beaucoup de cas chez l'*Ascaris*; elles m'ont paru régulièrement réparties dans le protoplasme. Jamais non plus je ne les ai vues agglomérées en touffes, comme Meves (1904) chez *Nymphæa*. Je n'ai observé ces différenciations que dans du matériel fixé au Flemming, jamais dans les anthères fixées par d'autres liquides. Il se peut que ceux-ci les dissolvent, comme le fait le Flemming pour les formations mitochondriales des cellules somatiques ordinaires.

En dehors des cellules-tapètes, on a également retrouvé des formations intracytoplasmiques dans d'autres tissus végétaux.

Von Smirnow (1906) vit, dans les cellules des jeunes racines de *Hyacinthus orientalis*, des granulations fortement colorables par la laque ferrique d'hématoxyline, et qui, dans les racines plus âgées, où les cellules

possèdent des vacuoles, sont remplacées par des filaments longs et ondulleux, formés de granulations disposées en série linéaire. Ces formations étaient visibles sur la cellule vivante.

Duesberg et Hoven (1910) retrouvent ces aspects dans les germes de *Pisum sativum*, *Phaseolus vulgaris* et *Allium porrum*. Ils fixaient par le liquide de Flemming[1]) et coloraient, soit par l'hématoxyline ferrique, soit par la méthode de Benda au crystall-violett et à la sulfalizarine. Ils mettent ainsi en évidence «des filaments de longueur variable, assez épais et souvent renflés aux extrémités, et formant par endroits des pelotons serrés». Ils sont entremêlés de granulations, que les auteurs considèrent comme des sections de filaments. Sur le vivant, ces formations apparaissent sous forme d'éléments réfringents. Dans la cellule plus âgée, et vacuolisée, ces filaments existent seulement dans les travées cytoplasmiques qui séparent les vacuoles, mais jamais dans celles-ci (fait confirmé par A. Romieu 1911). Et au fur et à mesure que la cellule vieillit, «les chondriosomes deviennent plus minces et se fragmentent en filaments plus courts». Par conséquent l'évolution de ces formations est ici juste l'inverse de ce qu'elle est, d'après Smirnow, dans *Hyacinthus orientalis*. De même, Duesberg et Hoven mirent ces formations en évidence dans les cellules de *Tradescantia*.

Pensa (1910) étudie l'ovaire de plusieurs Angiospermes (diverses espèces de *Tulipa* et de *Gladiolus*, *Lilium candidum* et *L. Martagon*, *Iris germanica*, *Juta filamentosa*, *Papaver rhœas*, *Rosa thea*, *Solanum tuberosum*). Il traite les coupes par la méthode à l'argent réduit de Ramon y Cajal, et y voit alors apparaître des «formazioni che assomigliano in modo veramente impressionante ai mitocondri degli animali» (p. 326). Ces formations sont réparties dans les trabécules protoplasmiques et autour du noyau (jamais dans les vacuoles). Ce sont des granules, des anneaux, des filaments, des bâtonnets, suivant les espèces envisagées. D'ailleurs toutes les cellules ne contenaient pas nécessairement de telles formations; et même, dans certaines assises cellulaires de certaines espèces. celles qui en contiennent sont la minorité (par ex. couches moyennes des parois de l'ovaire de *Lilium candidum*) (fig. 3).

Les formations précitées sont différentes par l'aspect de celles qu'ont observées Duesberg et Hoven. Mais, dans les assises internes des car-

[1]) C'est du moins ce qui est indiqué dans leur travail. Mais il est probable que sous ce terme ils désignent des variantes peu riches en acide acétique, les seules adéquates pour la fixation des mitochondries, et ceci est d'autant plus vraisemblable que Duesberg (1910a) désigne justement ces variantes (liquide de Benda, etc.) sous la même expression générale.

pelles de *Lilium candidum*, Pensa a mis en évidence des bâtonnets onduleux et des granules absolument semblables aux formations décrites par les deux auteurs belges. Pensa compare ces bâtonnets aux chondriosomes de l'embryon du poulet (Meves). Quant aux granulations noires, ce ne sont certainement pas des sections de filaments, comme le supposaient Duesberg et Hoven, car, dans les cellules les plus internes des téguments, elles existent seules.

Tischler (1910) a observé également dans les cellules-mères du pollen de *Musa sapientum*, variété *Dole*, après fixation au Flemming et coloration à l'hématoxyline ferrique, des mitochondries, sous forme de granules isolés ou disposés en série.

Lewitsky (1911) traite par le fixateur de Benda et l'hématoxyline ferrique (méthode de Meves) des germes de *Pisum sativum* et divers tissus de *Asparagus officinalis*. Partout il retrouve des formations mitochondriales: dans les cellules-mères du pollen par exemple, ce sont des filaments et des granules, les filaments étant formés de granules englués en série linéaire dans un stroma peu colorable. Ces filaments se raccourcissent et s'épaississent au fur et à mesure de l'évolution des cellules-mères du pollen, et prennent »eine stäbchenförmige Gestalt«. Et finalement ils se segmentent en granules, qui dans le grain de pollen donnent de petites vésicules. Lewitsky a pu sur le vivant découvrir aussi ces formations.

Enfin Tischler (1906a) et Němec (1910) ont observé des formations chromidiales filamenteuses dans les cellules hypertrophiées des galles causées par les *Heterodera* sur diverses plantes (*Circœa lutetiana*, *Pritchardia robusta*, etc.)[1]).

Dans la littérature ancienne, antérieure aux travaux de Benda et de Meves sur les Animaux, on trouve aussi des descriptions qui semblent indiquer que certains auteurs ont également observé des formations chromidiales, mais sans se rendre compte de leur véritable nature.

Ainsi Zimmermann (1893) (p. 215) propose de réunir sous le terme de nématoblastes un certain nombre de différenciations diverses:

a) Des formations filamenteuses qu'il a observées dans les méristèmes radiculaires de *Vicia Faba*, aussi bien sur le vivant que sur le matériel fixé.

b) Les »Kristall-Plastiden«, inclusions de réfringence variable que Wigand a signalées dans les poils absorbants de diverses racines, de

[1]) Je laisse entièrement de côté, dans cet exposé, les observations de von Derschau (1907, 1908, 1910), observations qui ne me paraissent que par trop insuffisamment corroborées par les dessins que donne l'Auteur.

Trianea en particulier, et Zimmermann lui-même dans les poils de *Momordica elaterium*, où ce sont des filaments flexueux faiblement réfringents.

c) Hypothétiquement, les «Physodes» de Crato, mais les figures de cet auteur (1892 a et b) montrent, comme le fait remarquer Lundegård (1910) que ce sont là bien plutôt des vacuoles.

Schniewind-Thies (1897) figure aussi dans les cellules sécrétrices des nectaires septaux de diverses plantes des formations très comparables à des chondriosomes: dans *Lilium Martagon* (fig. 96), *Narcissus Tazetta* (fig. 119), *Diervilla rosea* (fig. 158); — de même dans une cellule d'une papille stigmatique de *Lilium Martagon* (fig. 152). Ce sont partout des formations filamenteuses plus ou moins onduleuses, éparses dans tout le corps cellulaire, et qui, chez *Narcissus Tazetta*, sont, comme le montre la figure 119, formées de granules aboutés.

Une question qui se pose aussitôt, et dont l'importance est capitale, est de savoir de quelles formations connues chez les Animaux on doit rapprocher ces différenciations intracytoplasmiques végétales.

Dès le début, nous distinguerons deux grandes catégories de formations cytoplasmiques, dans lesquelles nous rangerons toutes celles que l'on a observées dans les cellules somatiques des Métazoaires (je laisse entièrement de côté les Protozoaires):

1. Les chromidies ou formations chromidiales sensu strictiori, c'est-à-dire les formations découvertes par Goldschmidt (1905) dans divers tissus de l'*Ascaris*, retrouvées par Reichenow (1908) dans les cellules de l'épithélium intestinal des Anoures, et dont sont très certainement homologues certaines différenciations qui se trouvent dans les ovocytes en voie d'accroissement. Ces formations sont caractérisées par ce qu'elles peuvent être mises en évidence après fixation par un mélange riche en acide acétique, et se colorent par les mêmes teintures que la chromatine, et dans le même ton que cette dernière.

2. Les chondriosomes sensu Meves, c'est-à-dire des différenciations filamenteuses ou granuliformes, qui ne peuvent être mises en évidence qu'après fixation par des liquides peu riches en acide acétique[1]), ce dernier les dissolvant, et qui, au moins par certaines méthodes (méthode de Benda) ne se colorent pas comme la chromatine nucléaire.

Tandis que les chromidies paraissent limitées à des tissus bien déterminés, les chondriosomes semblent exister dans toutes les cellules sans

[1]) De même que, quoique d'une manière moins régulière, par des mélanges qui n'en contiennent pas, pas plus que d'acide osmique: liquide de Bouin, mélange de Regaud (formol + bichromate de potassium), etc.

exception. De plus, tandis que les chromidies n'existent pas constamment dans une cellule donnée, mais n'apparaissent que lorsqu'un certain état physiologique est réalisé dans son intérieur, les chondriosomes existent durant toute l'évolution de la cellule; leur existence n'est donc pas liée à l'activité physiologique du plasma où ils sont situés.

Il ne semble pas que l'on puisse, du moins en l'état actuel de nos connaissances, rameuer à une seule ces deux catégories de formations, c'est-à-dire, comme le fait Goldschmidt, soutenir l'homologie de nature des formations chromidiales et des formations mitochondriales. Les raisons qui semblent s'opposer à ce rapprochement découlent d'ailleurs de l'exposé ci-dessus.

Ceci posé, de quelles de ces formations rapprocher les différenciations du plasma des Végétaux? Ici encore il faut distinguer.

Les formations observées par von Smirnow, Duesberg et Hoven, Pensa, Lewitsky, dans les jeunes cellules végétales, avec des caractères morphologiques tout à fait comparables à ceux des chondromites des Animaux et à tout moment de la vie de ces cellules, doivent être rapprochées de la deuxième catégorie de formations.

Chez les Animaux, on sait que les chondriosomes jouent un rôle très important dans la différenciation des tissus. Meves (1910) a montré quelle part fondamentale ils prennent à la différenciation du tissu conjonctif, Duesberg (1910) dans la genèse des myofibrilles, Hoven (1910) dans l'histogenèse du système nerveux périphérique. On a cherché chez les Végétaux à leur faire jouer des rôles analogues; une partie de ceux qui existent dans les cellules méristématiques persisteraient tels que jusque dans l'état adulte, en jouant peut-être un rôle dans l'élaboration de substances de réserve, — et d'autres interviendraient dans la différenciation des tissus, de même que chez les Animaux.

Pensa le premier apporta des faits en faveur de cette manière de voir. Pour lui en effet «tutte queste formazioni . . . sono intimamente legate alla formazione dei chloroleuciti o corpi clorofilliani» (p. 330). Et en effet on verrait, dans les diverses assises cellulaires des parois de l'ovaire de *Rosa thea*, «i varii stadii di passaggio dai grauuli minuti contenuti nelle cellule periferiche ai grossi e tipici cloroplasti delle cellule degli strati medii». Et ces chloroplastes fixent d'ailleurs l'argent réduit, de même que les mitochondries des cellules voisines.

De même Lewitsky (1911) admet que, chez *Asparagus officinalis*, »in der Stengelspitze des Keimlings wandeln sich die Chondriosomen zu Chloroplasten um, in der Wurzelspitze zu Leukoplasten« (p. 545). Il

est vrai que Meyer (1911) révoque en doute les données de Lewitsky; mais ses arguments sont loin d'être convaincants.

Au contraire, les formations intracytoplasmiques des cellules-tapètes sont étroitement comparables aux formations chromidiales décrites par Goldschmidt et Reichenow.

J'ai signalé ce fait, déjà remarqué par Tischler (1906a), que, dans une anthère fixée au Flemming, et colorée par la méthode de M. Heidenhain, les chromidies apparaissent uniquement dans les cellules-tapètes, et point dans les tissus des parois des anthères ni dans les cellules-mères du pollen. Ce fait ne peut s'expliquer qu'en admettant que les formations chromidiales des cellules-tapètes ne sont pas de même nature que celles des autres tissus, et par suite ne réagissent pas de même façon aux réactifs. Et c'est là un premier point de rapprochement avec les chromidies de l'*Ascaris* et des Anoures.

Mais il en est d'autres. Goldschmidt (1905), étudiant les cellules musculaires de l'*Ascaris lumbricoïdes* après avoir soumi l'animal à une tétanisation artificielle d'une heure, y trouve une quantité énorme de filaments chromidiaux, »eine Menge, wie sie sonst nie zur Beobachtung kam« (p. 78). De même, dans les cellules de l'épithélium de l'intestin moyen, il trouve des chromidies dans les cellules qui contiennent des substances assimilées; et, au contraire, sur des animaux qui avaient jeûné 3 jours, il n'observe ni formations deutoplasmiques, ni chromidies.

Reichenow (1908) a fait des observations comparables sur les cellules de l'intestin des Anoures. Il fait jeûner une larve durant trois jours et la nourrit ensuite abondamment. Puis il l'ouvre, et observe que la partie antérieure de l'intestin seule était gorgée d'aliments frais, le reste en étant dépourvu. Or l'étude microscopique montre que les cellules de la portion moyenne et postérieure de l'intestin étaient dépourvues de chromidies. »Dagegen traten sie nur auf Schnitten durch den Vorderteil in so deutlicher Ausbildung entgegen, wie ich sie noch auf keinem andern Präparat nur annähernd beobachtet hatte« (p. 712), ajoute l'auteur. Ici donc encore l'accroissement de l'intensité de la fonction a augmenté l'abondance des formations chromidiales, et celles-ci sont absentes dans les cellules qui ne fonctionnent pas.

Or ces apparences sont très rapprochables de ce fait que les cellules-tapètes sont les seules cellules de l'anthère où l'on observe des formations chromidiales, en utilisant les techniques ordinaires. En effet ce sont là, de toute l'anthère, les cellules qui ont le métabolisme nutritif le plus intense; d'une part elles absorbent aux dépens des parois du sac pollinique des matériaux, qu'elles emmagasinent, et c'est à cette accumulation de

substances deutoplasmiques que leur plasma doit son apparence spéciale; — et d'autre part, au moins à partir d'un moment donné de leur évolution, elles cèdent peu à peu ces substances de réserve aux grains de pollen en voie de formation. Ces cellules sont donc absolument semblables aux cellules des épithéliums intestinaux, qui, elles aussi, absorbent les matières nutritives charriées par le courant de chyle, les accumulent durant un certain temps, puis les évacuent dans le sang.

Ainsi donc, dans les cellules intestinales de l'*Ascaris* et des Anoures, il existe des formations qui ne sont pas dissoutes par le liquide de Flemming (fort) et qui par l'hématoxyline au fer se colorent comme la chromatine nucléaire; — il en est de même dans les cellules-tapètes. Dans les cellules intestinales, ces formations n'apparaissent que lorsque la cellule joue un rôle actif, et absorbe des substances nutritives; — de même, dans le tapetum, les chromidies n'apparaissent que lorsque ces cellules commencent à accroître beaucoup leurs dimensions et à présenter les symptômes d'une activité considérable (multiplicité des noyaux, début de la vacuolisation du plasma, suc cellulaire très abondant, etc.). Et, dans les unes comme dans les autres, ces éléments ont la même forme et augmentent en taille et en nombre à mesure que l'activité physiologique de la cellule augmente elle-même. Et d'autre part, je l'ai montré, les cellules de l'épithélium intestinal et les cellules-tapètes sont absolument comparables au point de vue physiologique.

Comment dès lors douter de la similitude des différenciations cytoplasmiques qui apparaissent dans les unes et dans les autres, aussi bien morphologiquement que physiologiquement?

Vejdovsky (1907), s'appuyant sur des recherches effectuées sur *Ascaris ensicaudata*, a cherché à expliquer les formations chromidiales découvertes par Goldschmidt (1905) chez *Ascaris lumbricoïdes* et *A. megalocephala* par des déformations des filaments de soutien développés dans le protoplasme. Pour lui, les apparences observées par Goldschmidt sont des artefacts dûs à la fixation des animaux coupés en tronçons, à la mort lente des cellules, et dans certains cas au moins à l'excitation prolongée (tétanisation électrique et séjour dans des solutions alcoolisées) que Goldschmidt faisait subir à des *Ascaris*, dans le but de rechercher les modifications que subit le chromidium suivant l'état physiologique des éléments où on le trouve. Les filaments de soutien, qui d'ordinaire sont rectilignes, seraient devenus flexueux, onduleux par suite de la contraction des cellules (cellules musculaires en particulier). »Kurzum, der von Goldschmidt beschriebene Chromidialapparat stellt infolge der gewaltsamen Einwirkung der angewandten Versuchsreagentien stark verletzte

und zerrissene Fäden des 'normalen' fädigen Gerüstapparates dar« (p. 89). Cette opinion a été déjà rendue peu vraisemblable par les recherches de R. Ehrlich (1909), qui a retrouvé les formations décrites par Goldschmidt dans des intestins fixés, immédiatement après avoir été sortis du corps, dans le liquide de Carnoy, — et où par suite les causes d'erreur imputables à Goldschmidt ont été évitées; — et, de plus, du propre aveu de Vejdovsky, chez *A. ensicaudata*, »die Anordnung der Stützfibrillen, sowohl in den Darmzellen als Muskelzellen, nicht im mindesten an die stark gefärbten, verschlungenen Stränge von *Ascaris megalocephala* und *lumbricoïdes*, wie sie von Goldschmidt beschrieben und abgebildet werden, erinnern«. Enfin Goldschmidt lui-même (1909) (p. 101—106) a réfuté complètement les arguments de Vejdovsky. Il est donc probable que cet auteur n'a pas eu à faire à des formations chromidiales semblables à celles qu'a observées Goldschmidt, et ceci est rendu vraisemblable par ce fait que Goldschmidt lui-même n'a pas retrouvé dans les cellules de l'épithélium intestinal de *A. megalocephala* les chromidies qui y étaient remarquablement développées chez *A. lumbricoïdes*; *A. ensicaudata* peut lui aussi être privé de ces formations. Maziarski (1910), à propos des formations analogues qu'il a observées dans les cellules entériques d'*Idothea*, rejette aussi l'opinion de Vejdovsky. Il reconnaît bien que les fibrilles de soutien des cellules intestinales «se présentent sous la forme de filaments rectilignes ou flexueux, de structure uniforme ou quelquefois moniliforme, et montrant la même coloration élective que la chromatine nucléaire» (coloration à l'hématoxyline ferrique) (p. 535). Mais les formations chromidiales sont d'après lui d'un type tout à fait autre, et on ne peut les identifier à aucun point de vue. «La répartition et le parcours flexueux des formations décrites ne peuvent être rapportés à de mauvaises fixations. On aperçoit les mêmes images après l'action de tous les fixateurs; les cellules ne montrent aucune rétraction, ce qui permettrait d'interpréter le parcours flexueux de ces filaments».

Dobell (1909) repousse également l'opinion de Goldschmidt, et, pour lui, l'appareil chromidial décrit par ce savant représente "really scattered remnants of centroplasmic fibrils or their derivatives" (p. 304).

Les apparences que j'ai observées dans les cellules-tapètes me paraissent apporter une contribution précieuse à la connaissance de la nature réelle de ces formations. On ne saurait songer à considérer ici ces différenciations comme représentant des restes de centroplasme et de fibres fusoriales, puisqu'on les observe même dans les cellules-tapètes de l'Hellébore, où, nous l'avons vu, les noyaux ne se divisent jamais, et où les cellules demeurent sans cesse à l'état uninucléé. Donc l'opinion de Dobell ne

saurait être exacte. Et d'autre part celle de Vejdovsky ne l'est pas non plus, car on n'a pas à ma connaissance signalé de »Gerüstfibrillen« ni de »Skelett« dans les cellules végétales. Par conséquent ces données vérifient l'idée de Goldschmidt, et prouvent le mal-fondé des idées de Vejdovsky et de Dobell.

Meves (1904), (puis 1908, p. 843), puis Duesberg et Hoven (1910) ont rapproché des formations mitochondriales ces différenciations observées dans les cellules-tapètes. Cette manière de voir est à mon avis inexacte, vu la manière très différente dont se comportent vis-à-vis des liquides riches en acide acétique les chondriosomes végétaux, et étant donné d'autre part qu'on voit ces formations apparaître dans les cellules-tapètes à un moment donné de leur évolution, ce qui n'a pas lieu chez les Animaux pour les chondriosomes des cellules embryonnaires (continuité des chondriosomes des cellules embryonnaires et des mitochondries des cellules sexuelles [Duesberg 1910b—1911], continuité qui d'après Lewitsky [1911] existerait aussi chez les Végétaux [*Asparagus*]).

Dans un travail paru en Octobre 1910, Lundegård apporte des vues tout à fait nouvelles sur ces structures protoplasmiques, et qui, par suite de certaines des apparences que j'ai observées, méritent d'être examinées de près. Lundegård aperçut dans le plasma des cellules méristématiques des racines de *Vicia Faba* »reichlich eigentümlich aussehende Strukturen. Es waren teils band-, wurm-, wurst-, bläschen- oder fadenartige Körper, vorzugsweise um den Kern gelagert, teils kernähnliche kleine Gebilde« (p. 331). Or pour Lundegård toutes ces apparences proviennent de déformations dans les leucoplastes, déformations amenées par les réactifs. Et il semble bien indiscutable qu'il en est réellement ainsi, car Lundegård apporte des arguments très puissants en faveur de sa manière de voir, et, de plus, il a pu, sur des sections faites à la main dans des racines de Fève, sections traitées par les réactifs sous le microscope, observer les modifications progressives dans la forme des leucoplastes, allant jusqu'à donner des apparences semblables à celles qu'il a obtenues sur les matériaux fixés. L'auteur considère que c'est là »ein Beitrag zur Kritik zweier Vererbungshypothesen« (allusion aux idées de Meves sur la participation des chondriosomes à l'hérédité), et discute à ce propos la signification des formations chromidiales.

Tout d'abord, il établit une comparaison étroite entre les structures qu'il a observées et les formations chromidiales et mitochondriales observées chez les Végétaux. A vrai dire, il dit bien (p. 356): »Natürlich behaupte ich nicht, daß alle diese in dem Plasma verschiedener Pflanzen wahr-

genommenen Strukturen auch Leukoplasten oder gar Plastiden sind.« Mais il paraît au fond être persuadé du contraire, comme le prouvent les comparaisons qu'il établit sans cesse entre ce qu'il a vu et les aspects observés par Meves, Tischler et Smirnow, et d'autre part les conclusions très générales qu'il tire de cette discussion. Il élargit ensuite le cadre de sa critique et l'étend aux chromidies et aux mitochondries observées chez les Animaux, qu'il tend de même à expliquer, au moins en partie, par l'action des réactifs.

Cette manière de voir me paraît injustifiée et hasardeuse. En effet:

1. Lundegård met ces structures en apparence par des fixateurs spéciaux:

a) Il plonge des racines de Fève pendant 10—30 secondes dans une solution à 1% d'acide chromique, puis il les sectionne à 1—2 mm du sommet et les fixe dans le mélange faible de Flemming (p. 331).

b) Il plonge les racines intactes durant 30 secondes à 15 minutes dans la solution de Flemming, très étendue (10 à 100 parties d'eau pour 2 parties de mélange faible de Flemming). Puis il les coupe à la main et les porte dans le mélange faible de Flemming non étendu (p. 342).

C'est par ces deux modes de fixation qu'il met en évidence les structures qu'il a étudiées.

c) Au contraire, dans les racines fixées aussitôt après sectionnement dans le mélange fort de Flemming »sind die Strukturen im allgemeinen rundlich, bläschengleich, weniger in die Augen fallend« (p. 331). Les figures 2 de la planche VI et 27 de la planche VIII représentent de pareilles préparations. Or on ne voit dans le plasma: sur la figure 2 que quelques granules noirs tout à fait semblables à ceux de la figure 112 de ce mémoire, et un globule semblable à un noyau qui représente sans doute, comme le dit Lundegård lui-même, un leucoplaste; — et, sur la figure 27, quatre corps noirs et des formations annuliformes, telles que celles que l'on voit sur les figures 106, 107, 111 de ce mémoire. Ce n'est que dans un cas qu'une préparation fixée au Flemming a montré des aspects comparables à ceux des préparations traitées par les modes a) et b).

Or il est évident que ces modes de fixation a) et b) sont tout ce qu'il y a de mieux pour amener des modifications profondes et bizarres dans les cellules: séjour prolongé dans des solutions faibles d'acide chromique, sectionnements, fixation dans un liquide très lent et peu pénétrant, rien n'y manque. De même le cas de la préparation fixée au liquide de Flemming et qui présentait ces aspects s'explique par une mauvaise pénétration du réactif, qui n'a d'ailleurs rien d'étonnant.

Au contraire les formations chromidiales ont été mises en évidence, dans les cellules-tapètes, par Tischler, Meves, Beer, Gates, Geerts et moi-même après fixation par le mélange fort de Flemming. Or ce liquide tuant rapidement la cellule et conservant intacte la structure du noyau, il est improbable que les formations chromidiales soient dûes à son action. Pensa a d'ailleurs observé en coexistence dans la même cellule les formations mitochondriales et les chloroplastes; de même Lewitsky.

Et ce fait que les chromidies et les mitochondries apparaissent après fixation par des mélanges que l'on considère comme les meilleurs fixateurs connus, tandis que les structures observées par Lundegård ne peuvent être mises en évidence que par des traitements qui amènent une agonie lente et prolongée des cellules, enlève déjà toute valeur aux raisonnements que Lundegård a basés sur elles.

2. Après les modes de fixation utilisés par Lundegård, »es zeigten sich in den Zellen nicht selten Doppelkernigkeit, Zwergkerne u. dgl. mehr, denen analog, die Wasielewski, Némec, Strasburger u. a. nach Einwirkung verschiedener Anästhetica beobachten, denken ließ« (p. 337). Quelles modifications profondes un liquide qui cause de pareils troubles dans l'appareil nucléaire d'une cellule ne peut-il pas amener dans le plasma! Et si dans les cellules-tapètes on pourrait encore songer à expliquer les chromidies par l'état plus ou moins pathologique dans lequel se trouve la cellule, il n'en est pas ainsi pour les méristèmes jeunes étudiés par Smirnow, Duesberg et Hoven, Pensa et Lewitsky.

3. Les structures observées par Lundegård ont des formes et des contours absolument irréguliers, qui font songer aux aspects des «cellules artificielles» obtenues par Traube et Leduc. Ce sont là évidemment des aspects essentiellement transitoires, dûs, comme le suppose Lundegård lui-même, à des phénomènes d'éclatement et de bourgeonnement par inégalités de tension superficielle. Au contraire les formations chromidiales sont toujours régulières et uniformes. Les figures de Meves, Duesberg et Hoven, Beer, Pensa, etc., et les miennes le montrent partout.

Lewitsky a cependant observé des faciès irréguliers à certaines de ses formations chromidiales; et en particulier ses figures 14 et 15 font penser aux aspects figurés par Lundegård. Mais Lewitsky utilisait comme fixateur le mélange de Benda, dont le pouvoir pénétrant est faible, et qui, s'il donne en général de bonnes fixations des tissus animaux, peut ne pas se conduire de même chez les Végétaux, où la pénétration

est rendue difficile par les parois cellulosiques et lignifiées, et l'air contenu dans les tissus[1]).

De même Goldschmidt (1905) a observé des formes assez irrégulières à ses chromidies (figs. 6, 8, 20, etc.); mais, comme le fait remarquer Goldschmidt lui-même, »*Ascaris* ist im allgemeinen schlecht zu konservieren« (p. 43), et, malgré toutes les précautions, »findet man immer mehr ungünstige Stücke als gute«. Il se peut donc que les irrégularités de forme des chromidies dessinées par Goldschmidt soient dûes en très grande partie à une pénétration insuffisamment rapide du réactif, comme le suggère de plus la forme parfois irrégulière des noyaux (figs. 19 et 20, par ex.). Au contraire, dans les *Nymphœa* étudiés par Meves, et où « die Pollenfädchen waren vor der Fixierung stellenweise ausgeschnitten » et fixés au Flemming fort, de sorte que les noyaux des cellules-tapètes »typische Osmiumwirkung zeigen«, les chromidies sont régulières. Il en est de même dans les *Ribes* étudiés par Tischler (1906a), dans les plantes que j'ai étudiées, dans le Poulet (Meves 1908, Duesberg 1910a), etc.

Or jamais, dans les dessins de Lundegård, on ne voit de filaments réguliers sur toute leur étendue; dans les figures du texte 3 et 4 et dans la figure 11 de la planche VI, que Lundegård (p. 390) indique comme particulièrement comparables aux figures de Meves (1904) et de Tischler (1906a), toutes les formations cytoplasmiques présentent des étranglements et des épaississements qui ne les laissent en rien comparables aux bandes parfaitement régulières dessinées par ces deux auteurs. Duesberg et Hoven (figs. 2 et 3) (1910) et Pensa (figs. 3 et 4) dessinent bien des filaments assez courts, légèrement renflés à chaque bout, mais ces aspects ne se laissent pas non plus comparer aux filaments très dilatés à une extrémité que l'on voit dans les figures 4 du texte et 11 de la planche VI de Lundegård. Ici encore, les apparences dessinées par Duesberg et Hoven, et Pensa, ont un aspect de régularité, de symétrie bien frappant, tandis que celles de Lundegård suggèrent l'idée de déformations pathologiques. D'ailleurs Duesberg (1910a) dessine dans le Poulet des chondriosomes de même forme (voir en particulier la fig. 7, qui représente une coupe dans un canalicule du corps de Wolff), et cette figure paraît bien montrer, comme le pense l'auteur, que cet épaississement distal est dû à un reploiement du filament sur lui-même.

4. Ainsi donc, les formations observées par Lundegård ne sont

[1]) Duesberg (1910a) prend des précautions spéciales pour fixer à l'aide de ce liquide les jeunes embryons de Poulet: il enlève l'albumine de l'œuf et même la membrane amniotique. Or, malgré ces précautions, «des embryons du début du 3e jour sont imparfaitement fixés dans leurs parties profondes» (p. 605).

pas le moins du monde assimilables par leur forme aux chondriosomes, et elles ne le sont certainement pas non plus par l'origine première. Lundegård a prouvé surabondamment que ces formations proviennent des leucoplastes; de même, à cause de leur forme, les mitochondries et les chromidies ne proviennent sûrement pas de la déformation d'une enclave cytoplasmique quelconque. En effet comment ces déformations, dûes à des éclatements par suite des irrégularités de la tension superficielle des membranes de ces inclusions, engendreraient-elles toujours et uniquement des filaments aussi réguliers, jamais ramifiés, d'épaisseur constante, se ressemblant tous entre eux, non seulement dans une même cellule, mais dans les diverses cellules d'un tissu donné? D'ailleurs Duesberg et Hoven, Smirnow les ont vues à l'état vivant chez les Végétaux; et de nombreux auteurs, et dans des cas très divers, chez les Animaux (voir Duesberg 1910a, p. 607—609).

A ceci, Lundegård objecte (p. 350) que ces chondromites peuvent »ebensowohl vacuolenartige Bildungen vorstellen«. Mais à cet argument deux réponses peuvent se faire:

a) Des vacuoles véritables dans le plasma ne seraient pas à la fois si enchevêtrées, si nombreuses et si régulières, ni jamais ramifiées ni anastomosées ensemble.

b) Et ces formations sont certainement »vacuolenartige Bildungen«, et cela ne préjuge en rien de leur valeur ni de leur rôle. Car tout dans la cellule est »vacuolenartig«, le noyau, les nucléoles, les chromosomes, et tout ce que le microscope nous y révèle est justement constitué par toutes ces formations vacuolaires, dont les fixateurs ont coagulé le contenu. Mais, parmi ces vacuoles coagulées, il en est de régulières par la forme, par les dimensions, et qui obéissent au cours de leur évolution à des lois déterminées: par exemple les chromosomes. Peu importe que les chondromites soient ou non des »vacuolenartige Bildungen«, s'ils suivent les mêmes règles. Ceci seul suffit à leur faire attacher un grand intérêt.

Plusieurs auteurs ont décrit aux formations mitochondriales une structure hétérogène. Ainsi Meves (1903) décrit des mitochondries vésiculeuses, formées par une gaîne sphérique fortement colorable par l'hématoxyline, — gaîne qui renferme un contenu clair. De même, d'après Meves (1908), dans les cellules embryonnaires du Poulet, »die kurzen dicken Stäbe und die größeren Körner lassen eine mit Eisenhämatoxylin schwarz färbbare Schale und einen hellen Inhalt unterscheiden«. Il en est de même, d'après le même auteur (1907), pour les chondriokontes des spermatocytes de l'Abeille. Goldschmidt (1905) décrit une structure

analogue aux chromidies de l'*Ascaris* (p. 54), et Duesberg (1910b) à celles du Lapin.

Lundegård attache en faveur de ses idées une grande importance à cette structure des chondriosomes, car elle lui paraît démontrer que ceux-ci proviennent bien de vacuoles; mais Bonnevie (1908) n'a-t-elle pas décrit aux chromosomes une structure analogue? Et cela cependant nous autorise-t-il à considérer les chromosomes comme des particularités sans importance?

5. J'ai pu voir dans les cellules-nourricières du pollen que les produits de déformation des chloroplastes et des leucoplastes ne donnent pas naissance aux chromidies. Considérons par exemple la figure 115. On voit dans le plasma 2 sortes de formations:

a) Des anneaux, parfois accolés les uns aux autres, et paraissant aussi bourgeonner des vésicules plus petites. Me basant sur les descriptions et les figures de Lundegård, je les envisage comme des leucoplastes déformés. Leur analogie est en effet complète avec certaines structures des figures 1, 9, 30 de cet auteur.

b) Des granulations noires, de tailles variables, parfois disposées en rangées linéaires. Dans la figure 107 des fibres chromidiales apparaissent mélangées à ces granulations et aux anneaux précédemment décrits. Dans la fig. 17, relative au *Yucca*, on voit encore des restes de chloroplastes, et des filaments chromidiaux commençants. Dans la figure 111 il existe encore des anneaux, mais les fibres chromidiales sont très développées. L'Hellébore, le *Datura* fournissent des images de tous points semblables. Et ces aspects montrent bien que l'on ne saurait songer à voir dans les anneaux (c'est-à-dire dans les leucoplastes) l'origine première des chromidies, mais suggèrent l'idée que celles-ci ont des liens de parenté avec les granulations noires, — soit que, comme le pensent Duesberg et Hoven, Lewitsky, les filaments se segmentent en granulations, — soit que, comme le croit Smirnow, ce soient les granulations qui en s'aboutant engendrent les filaments. Mes observations ne me permettent pas de choisir d'une manière certaine entre ces deux hypothèses.

Mais cette constitution des fibres chromidiales par des granulations aboutées est justifiée par les observations de Goldschmidt (1905) qui dit (p. 55) que ces fibres sont formées chez l'*Ascaris* par des »regelmäßige, ovale Tröpfchen perlschnurartig hintereinanderliegend«. Il en est de même chez *Ribes intermedium*, d'après Tischler (1906). De même encore, d'après la figure 119 de Schniewind-Thies (1897) dans les nectaires septaux de *Narcissus Tazetta*.

Mais en tout cas il me paraît extrêmement invraisemblable que, comme le suggère Lundegård (p. 358), les chondriomites et les chromidies soient produits artificiellement par l'action du réactif, qui ferait s'aboutter les granulations, jusque là éparses, puisque parallèlement on observe les deux formations dans la même cellule, et que, si un tel aboutement peut encore, dans les cas de systrophe, se réaliser pour 7 ou 8 leucoplastes, il serait absolument prodigieux qu'il se produisît pour les quelques centaines de granulations qui seraient nécessaires pour engendrer un seul filament chromidial ou un seul chondriomite.

6. Lundegård (p. 349) dit avoir »alle geformten Bildungen in dem Protoplasma von *Vicia* erwähnt«, et cette manière de voir, si elle était juste, donnerait une certaine force aux idées de l'auteur. En effet il est bien certain que, de même que dans les racines de *Pisum*, *Phaseolus*, *Asparagus*, etc., il existe des chondriosomes dans celles de Fève. Mais alors pourquoi Lundegård ne les a-t-il pas vus? Cela tient certainement aux réactifs fixateurs qu'il a employés. Le liquide de Flemming les dissout, et les autres mélanges dont s'est servi Lundegård ont pu, soit les dissoudre, soit eux aussi les déformer et les rendre méconnaissables. Un fait vient appuyer cette hypothèse: Lundegård dit en note (p. 390) n'avoir pas observé dans *Allium* de structures analogues à celles qu'il a vues dans la Fève. Or Duesberg et Hoven (1910) (p. 97) ont trouvé des formations mitochondriales dans les germes de *Allium porrum*.

7. Comme le fait remarquer Tischler (1906), il est extrêmement remarquable que, après fixation par le Flemming, les formations intracytoplasmiques n'apparaissent uniquement que dans les cellules-tapètes, et pas dans les autres cellules, germinales ou somatiques, de l'anthère. Et ce fait seul suffirait à faire écarter toute hypothèse contraire à leur existence réelle.

On pourrait multiplier les arguments. Ceux que je viens d'exposer me paraissent déjà prouver amplement que l'on ne peut admettre comme justes les idées de Lundegård sur la nature et la signification des formations chromidiales. Ce qu'il y a de vrai dans le mémoire de Lundegård, c'est l'appel à la prudence qu'il déduit de ses observations sur les structures protoplasmiques de *Vicia Faba*; — ce qu'il y a de faux, ce sont les comparaisons erronées et les généralisations injustifiées et hâtives auxquelles lui-même s'est laissé entraîner.

Je ne referai pas ici la discussion de l'origine première de ces différenciations. On la trouvera, faite d'une part par les protagonistes mêmes

de la théorie de l'origine nucléaire des formations chromidiales, dans les travaux de Goldschmidt et Popoff (1907) et de Goldschmidt (1909) (p. 106—112); — tandis que le point de vue opposé se trouve exprimé dans le mémoire de Lundegård (1910) (p. 312—323). Maziarski (1910) prend entre ces deux théories opposées une position intermédiaire: «un fait tout à fait sûr, c'est que ces formations (formations chromidiales des cellules entériques d'*Idothea*) ne proviennent pas entièrement du noyau. Ce sont des différenciations cytoplasmiques, et la chromatine éliminée du noyau les imprègne seulement» (p. 536).

De même, une étude approfondie des rapports de ces formations avec les chromidies des Protozoaires a été faite par Růžicka (1907) (p. 577 à 604), où on trouvera une discussion de la théorie du dualisme chromatique, de même que dans Chatton (1910) (p. 306—315) et Dobell (1909) (p. 279—319).

Je me bornerai à indiquer que je n'ai jamais observé de chromidies paraissant prendre directement naissance dans le noyau, sous forme d'aspects semblables à la figure 20 de Goldschmidt (1905) où à la figure 38 de Tischler (1906 a). Dans tous les cas les chondriosomes paraissent être entièrement indépendants dans le plasma et dépourvus de toute attache nucléaire. Duesberg et Hoven (1910) n'ont pas non plus vu d'apparences de ce genre, pas plus que Lewitsky (1911). Inversement A. Romieu (1911), dans une note préliminaire, se déclare partisan, d'ailleurs sans donner d'arguments, de l'origine nucléaire des mitochondries. Beer (1911) penche dans le même sens au sujet des filaments chromidiaux des cellules-tapètes de *Ipomœa*, qu'il a trouvées principalement réparties à la périphérie des noyaux.

Un mode spécial de formation de ces chromidies a été décrit par Beer (1905). Voici comment cet auteur explique la formation de ces filaments, chez *Œnothera biennis* et *Œ. longiflora*: "The nuclear membrane, which stains very deeply, becomes ruptured and shredded out into a group of fibres or narrow laminae whilst the nucleolus can also, in many instances, be seen to resolve itself into a coarse fibre" (p. 304). Mais ce mode de formation extrêmement bizarre repose certainement sur des observations inexactes. En effet les formations observées par Beer chez *Œnothera biennis* et *Œ. longiflora* sont certainement homologues de celles que Gates et Geerts ont vu dans d'autres espèces de ce même genre, et de celles qui ont été mises en évidence dans les mêmes cellules, chez d'autres plantes. Et ceci rend plus que vraisemblable que partout ces formations ont la même origine. Or le fait que chez l'Hellébore, où les cellules-tapètes demeurent toujours uninucléées, ces formations apparaissent

très tôt, et dans toutes les cellules sans exceptions, prouve bien que Beer a commis une erreur. Il a sans doute été trompé par l'aspect onduleux des filaments, qu'il a pris pour des sections de membranes nucléaires.

Au sujet de l'origine de ces formations chromidiales, je ferai encore les remarques suivantes:

1. Dès le début de la vie des cellules-nourricières, dès leur formation pourrais-je dire, leur plasma retient avec intensité les colorants de la chromatine: safranine, violet de gentiane, hématoxyline (et c'est là la plus grande difficulté que l'on rencontre lorsqu'on veut colorer ces cellules par la méthode triple de Flemming). Cette affinité ne fait que s'accentuer à mesure que l'évolution avance, et dans certaines plantes même (en particulier l'Asphodèle), le plasma retient à un moment donné la laque d'hématoxyline avec autant d'intensité que la chromatine, ce qui rend extrêmement aléatoire la différenciation. Cette affinité peut s'expliquer de deux manières: ou bien en admettant que de la chromatine s'échappe du noyau et imprègne le protoplasme; — ou bien en supposant qu'il existe dans celui-ci une substance qui fixe les mêmes colorants que la chromatine, et qui elle-même peut provenir du noyau ou s'être formée sur place.

Cette affinité très grande du plasma pour les colorants paraît être un fait général dans les cellules qui vont dégénérer: Tischler (1906b) par exemple la signale dans la cellule-mère du sac embryonnaire d'un hybride de Bryone. Ici encore, comme dans les cellules-tapètes, les premiers indices de la mort prochaine apparaissent, non pas dans le noyau, mais dans le protoplasme.

2. Les formations chromidiales apparaissent dans le protoplasme très tôt au cours de l'évolution, et avant que, dans aucune des plantes que j'ai étudiées, il ne se soit effectué aucun phénomène de pyknose ou de karyorrhexis qui indique une dégénérescence profonde des noyaux. Par suite il n'en est pas ainsi comme chez *Ribes*, où, d'après Tischler (1906a), les formations chromidiales apparaissent seulement après que des phénomènes de dégénérescence nucléaire et de lessivage chromatique ont commencé à se produire. De sorte que 2 hypothèses sont encore possibles: ou bien ces chromidies sont formées de chromatine, ou bien d'une substance qui se colore comme elle. On ne voit pas de relation nette entre le lessivage chromatique et l'abondance des filaments chromidiaux.

3. Les relations que les chromidies offrent avec le plasma apparaissent sous des jours variables, suivant le degré de la différenciation des préparations (colorées à l'hématoxyline ferrique). Dans des préparations très différenciées, dans lesquelles le plasma est entièrement décoloré, celui-ci

a une structure très finement fibrillaire, presque granuleuse, et les filaments chromidiaux apparaissent comme des sortes de boyaux qui seraient lardés dans la masse plasmique, situés à son intérieur, mais indépendants d'elle, et n'offriraient avec le plasma que des rapports de position, et pas de continuité (fig. 64).

Au contraire, sur des préparations peu différenciées, dans lesquelles le cytoplasme a une teinte bleutée très appréciable, il apparaît dans le plasma des fibrilles plus grosses, plus importantes; le nombre des filaments chromidiaux est lui-même plus considérable, leurs dimensions plus variées, et les aspects que l'on observe alors suggèrent cette opinion que les chromidies ne sont que des parties renforcées, et imprégnées d'une substance colorable, du réseau fibrillaire protoplasmique.

Il est donc nécessaire, avant de pouvoir se prononcer d'une manière certaine sur la nature chimique de ces formations et sur les relations qu'elles peuvent présenter avec le noyau, d'en faire une étude microchimique. Růžička (1907) a déjà attiré l'attention sur cette nécessité.

Un fait assez curieux est qu'on n'a pas pu déceler ces formations chromidiales dans les cellules-tapètes de toutes les plantes. Ainsi Tischler (1906b) n'a pas pu les mettre en évidence dans un bâtard de Bryone, ni (1910) chez *Mirabilis Jalapa* × *tubiflora*, pas plus que Winkler (1906) chez *Wickstrœmia*. Cette absence des chromidies dans certaines plantes n'a d'ailleurs rien de surprenant. Goldschmidt (1904) n'a pas réussi à retrouver dans les cellules épithéliales de l'intestin moyen de *Ascaris megalocephala* les formations chromidiales qui étaient si abondantes dans celles de *Ascaris lumbricoïdes*. Vejdovsky (1907), on l'a vu, n'a sans doute pas non plus eu affaire à des différenciations homologues, chez *Ascaris ensicaudata*, et, puisque les diverses espèces d'un même genre se comportent si différemment à un même point de vue, il n'est en rien étonnant que des variations comparables se trouvent, lorsqu'on étudie des plantes éloignées les unes des autres. Tischler (1906a) se demande si ce fait ne signifierait pas que »bei *Bryonia* die Bedeutung des Tapetums für den Stoffwechsel und die Ernährung des sporogenen Gewebes eine geringere als bei *Ribes* und *Œnothera* ist?« (p. 574). Cette vue me paraît extrêmement hypothétique.

c) La dislocation du plasma.

Pendant que le protoplasme subit les transformations que je viens d'étudier, la membrane se fragmente et disparaît peu à peu. Cette dis-

parition s'effectue d'abord à la face interne des cellules-tapètes, au contact des cellules goniales, et d'une manière très irrégulière, comme le montre la figure 17. Puis ces transformations s'étendent aux parois radiales, et, une fois celles-ci disparues, les cellules-tapètes sont intimément fusionnées les unes avec les autres, et leurs plasmas en continuité forment une sorte de syncytium dans lequel sont épars des noyaux très volumineux. Cet aspect est bien visible sur les figures 2 et 4 de mon précédent travail (1911 d).

Puis le plasma se disloque, se liquéfie en quelque sorte; et l'espèce de gelée à laquelle il donne naissance se répand entre les grains de pollen. Strasburger (1882) a signalé dans de nombreuses plantes des aspects de ce genre. Sur les coupes, les grains de pollen apparaissent alors comme des grains remplissant des alvéoles creusées dans une substance grisâtre qui s'est glissée dans tous les interstices. Peu à peu cette substance est digérée et disparaît, et corrélativement la membrane des grains de pollen se différencie.

V. Considérations générales.

En possession des résultats que nous a fournis l'étude de l'évolution des cellules-nourricières, on peut essayer de répondre à un certain nombre de questions générales qui se posent au sujet de la signification et de la valeur de ces cellules. La première est celle de la parenté des cellules-tapètes et des cellules goniales.

1. Les cellules nourricières sont-elles des cellules goniales?

J'ai déjà dit dans l'introduction que pour certains auteurs le tapetum ne serait que l'assise la plus externe du massif des archespores. Il se produirait dans chaque loge pollinique des phénomènes d'adelphophagie, comparables à ceux que l'on connaît dans l'ovaire de nombreux animaux, et par lesquels un certain nombre de cellules originairement prédestinées dans un sens reproducteur se détournent de cette voie primitive pour servir uniquement à nourrir celles qui continuent à évoluer dans la direction normale.

Certains auteurs, en particulier Rosenberg (1899) attachent à ce sujet une grande importance au synchronisme des mitoses des deux noyaux F_2, car ils le rapprochent des deux mitoses homéotypiques, qui s'effectuent au même moment et de manière synchrone. Et ce parallélisme est encore accentué par ce fait que, chez la plupart des Dicotylédones, les deux noyaux produits par la cinèse hétérotypique ne sont pas séparés l'un de l'autre par une membrane, de sorte que la cellule-mère

est à ce moment binucléée; et des cloisons cellulosiques ne se différencient entre les noyaux qu'une fois les cinèses homéotypiques terminées.

De plus, on connaît des cas où, après la division homéotypique, il ne se forme pas chez les Dicotylédones de membranes entre les 4 noyaux goniaux contenus à ce moment dans une même masse plasmique, ce qui engendre des cellules quadrinucléées. Des cas de ce genre ont été signalés par Cannon (1903) chez *Gossypium*, par Woycicki (1906) dans *Larix sibirica* et par Němec (1910) dans *Larix dahurica* traités par des narcotiques, par Tischler (1908) dans l'hybride *Mirabilis Jalapa* × *M. tubiflora*, par Rosenberg (1907) chez *Hieracium excellens*. Tischler (1908) a déjà rapproché ces apparences de celles qui se voient dans les cellules-tapètes.

Si réellement cette manière de voir avait de la valeur, elle fournirait un sérieux argument en faveur de l'origine archesporiale des cellules-nourricières. Mais en est-il ainsi? Je ne le pense pas, parce que le fait que, dans les cellules plurinucléées, les divers noyaux présentent une évolution synchrone n'est pas le moins du monde caractéristique des sporocytes, mais est un caractère général des cellules polyénergides. Němec (1904, 1910) étudiant les racines chloralisées de diverses Angiospermes, le Pois en particulier, y voit des cellules binucléées, et jamais il n'a trouvé même un seul cas où la division de ces deux noyaux ne s'effectuât pas simultanément. Strasburger (1907) a vérifié ces données.

Il en est de même dans les cellules plurinucléées des Euphorbiacées (Němec 1910). Et cependant ces cellules géantes contiennent jusqu'à 16 noyaux. De même Brachet (1910) observe que, dans les œufs de *Rana fusca* dans lesquels ont pénétré de 4 à 10 spermatozoïdes (polyspermie expérimentale) l'un d'eux se fusionne avec le pronucleus femelle, et tous les noyaux ainsi présents dans le cytoplasme ovulaire se divisent synchroniquement. Kostanecki (1908) observe aussi un pareil synchronisme dans la division des noyaux des blastomères, dans l'œuf parthénogénétique de *Mactra*. De nombreux autres cas de ce genre pourraient être rapportés.

Pourtant il ne faudrait pas non plus généraliser outre mesure, car ce synchronisme souffre des exceptions. Par exemple, dans les laticifères des Euphorbiacées (Němec 1910), les noyaux ne se divisent pas simultanément. Un ou deux noyaux entrent en division à une certaine distance (0,3—0,6 mm) du point végétatif, et à partir de ce point d'ébranlement l'oscillation mitotique se propage dans les deux sens, à la fois acropète et basipète.

Il en est de même dans les parois protoplasmiques du sac embryonnaire, lors de la formation de l'endosperme. Et ici trois cas différents se rencontrent:

1. Les noyaux commencent à se diviser à l'extrémité micropylaire du sac embryonnaire, et de là le processus mitotique s'étend comme une vague jusqu'au pôle antipodal, de sorte qu'on trouve dans un tel sac embryonnaire tous les épisodes de la karyokinèse se succédant dans l'ordre chronologique, des antipodes aux synergides (Strasburger 1880) (*Fritillaria*).

2. Dans *Corydalis pumila* (Némec 1910), c'est l'inverse: le processus débute aux antipodes et finit aux synergides.

3. Dans *Vicia Faba*, d'après Buscalioni (1898), les premières divisions s'effectuent simultanément pour tous les noyaux («esplosioni cariocinetiche» de Buscalioni, p. 36). Puis le parallélisme des mitoses se localise en des plages limitées et irrégulières.

Il en est encore de même dans les galles causées sur les racines de diverses plantes par des vers appartenant au genre *Heterodera*. Le Nématode amène la formation de cellules géantes renferment un grand nombre de noyaux (plus de 500 parfois chez *Vitis gongylodes*); or ces noyaux ne se divisent pas synchroniquement. On trouve, dans une même cellule et à un même instant, par exemple des noyaux quiescents et des métacinèses.

Cependant remarquons que dans tous les cas où il n'y a pas synchronisme on a à faire à des masses de plasma très volumineuses et très étendues (tubes laticifères, parois d'un sac embryonnaire, cellules géantes). Au contraire, dans tous les cas où plusieurs noyaux se trouvent réunis dans un espace relativement restreint, le synchronisme est parfait. Comme le fait remarquer Strasburger (1909), le synchronisme se réalise donc dans les cellules »deren Größe nicht gewisse Grenzen überschreitet« (p. 55). Je ne connais que de rares exceptions à cette loi: Tischler (1908) représente (fig. 58) chez *Potentilla Tabernæmontani* × *P. rubens*, une dyade dans laquelle un des noyaux est en voie de division, l'autre étant encore au repos. De même Huss (1906) figure dans les antipodes de diverses Angiospermes [*Caltha palustris* (fig. 9), *Clematis Atragene* (fig. 66), *Anemone Pulsatilla* (fig. 57)] plusieurs noyaux dont certains sont au repos et d'autres en voie de division. —

Or on ne saurait songer à expliquer le synchronisme de la division des noyaux dans les petites cellules par l'égalité d'âge et la similitude de l'évolution de ces noyaux, puisque, lorsque 2 noyaux-fils issus d'une mitose sont séparés par une membrane, il arrive très fréquemment que, quoique suivant une évolution parallèle, ils ne se divisent plus exactement au même moment. Par conséquent la raison de ce synchronisme doit être cherchée dans ce fait que les noyaux sont plongés dans une même masse de cytoplasme. Mais alors comment se fait-il que dans les petites

cellules il y ait synchronisme, et pas dans les grandes? Il faut sans doute songer à des différences qualitatives dans le plasma aux divers points de la masse cytoplasmique envisagée, différences qui ne sauraient dans de petites cellules être assez considérables pour entraîner des différences dans le mode de vie des noyaux.

Quoi qu'il en soit, le fait que, dans les cellules-nourricières, de même que dans les sporocytes, les divisions des divers noyaux contenus dans une même masse plasmique marchent simultanément ne saurait être considéré comme tenant à une propriété spéciale des cellules goniales, puisque le même synchronisme se retrouve tout aussi parfait et aussi accusé dans des cellules indiscutablement somatiques par leur origine et par leurs destinées. Et ceci me semble devoir faire repousser définitivement l'idée de Rosenberg, que le synchronisme mitotique des deux noyaux F_2 des cellules-tapètes serait un »Erblichkeitsphänomen«.

Rosenberg (1899) invoque encore d'autres faits en faveur de son idée de la parenté étroite des cellules-nourricières et des cellules mères du pollen.

En premier lieu, il n'a jamais observé, dit-il, plus de quatre noyaux dans les cellules-nourricières de *Drosera*; or ce nombre est exactement le même que celui des noyaux qui dans les cas ordinaires sont issus de la division du noyau de chaque microsporocyte. Et c'est là une coïncidence au moins remarquable.

Dans les espèces que j'ai étudiées, je dois dire que je n'ai que très rarement observé dans les cellules-tapètes plus de 4 noyaux (Ex.: *Cobœa*). Mais, dans le *Yucca*, le *Fuchsia*, la Belladone, etc., la formation de 4 noyaux dans chaque cellule était une règle. Et, dans les cas (*Cobœa*) où à un âge avancé de la cellule on en trouve plus de quatre, on peut mettre cette particularité au compte des irrégularités déjà étudiées dans les mitoses et la reconstruction des noyaux. De même Tischler (1908) figure 4 noyaux (fig. 107a) dans une cellule-tapète de *Syringa*.

D'autres auteurs cependant ont trouvé dans des cellules-nourricières un nombre très considérable de noyaux. Par exemple Tischler (1906a) a vu dans *Ribes intermedium* se former un très grand nombre de noyaux; mais il est vrai que ces noyaux multiples prenaient naissance, d'après l'auteur, par amitose et bourgeonnement aux dépens de 4 noyaux F_3, produits par mitoses conjuguées, et que durant un très long temps chaque cellule nourricière persistait ainsi avec 4 noyaux, pas plus, pas moins; — et c'est là encore une apparence remarquable, propre à attirer l'attention sur ce nombre 4.

Mais, en 1908, le même auteur décrit dans les cellules-nourricières avancées en âge de *Mirabilis Jalapa* × *M. tubiflora* un nombre très considérable de noyaux (on en voit 11 dans la figure 33), issus, dit-il, par bourgeonnement, de deux noyaux F_2. Ici donc, si ces observations sont complètes, il n'y aurait pas de mitoses conjuguées des deux noyaux F_2, et pas de stade de longue durée à 4 noyaux. Chez *Hepatica*, COULTER (1898) a trouvé de même dans chaque cellule-nourricière de 6 à 13 noyaux.

Inversement, LAGERBERG (1909), chez *Adoxa*, n'a jamais observé plus de deux noyaux dans chaque cellule-tapète: »Bei *Adoxa* habe ich nie mehr als 2 Kerne in diesen Zellen beobachtet.« De même MERRELL (1900) ne dessine que 2 noyaux dans chacune des cellules-nourricières de *Silphium*; et LUBIMENKO et MAIGE (1907) disent aussi n'en avoir observé que deux dans celles de *Nymphæa alba*. Enfin je n'en ai jamais observé qu'un seul dans celles de *Helleborus viridis*.

Ainsi donc, dans beaucoup de cas, les cellules-tapètes présentent, souvent d'une manière définitive, mais toujours assez durable pour qu'elle apparaisse comme douée d'une certaine importance et d'une certaine signification, quatre noyaux. Les cas où ce nombre est dépassé ultérieurement s'expliquent par des phénomènes secondaires greffés sur les données premières. La formation aux dépens de ces 4 noyaux F_3 d'un nombre plus ou moins considérable de vésicules nucléaires n'a pas plus d'importance que les irrégularités mitotiques que l'on observe presque à l'état de règle dans les cellules-tapètes.

Les cas où jamais quatre noyaux ne naissent dans une cellule donnée sont plus importants, car, si réellement les cellules-tapètes sont des cellules goniales somatisées, il y a là une grande modification par rapport aux processus originels, et qui paraît à première vue difficilement explicable.

Cependant la difficulté n'est peut-être point aussi grande qu'elle le paraît de prime abord.

En premier lieu il est des plantes chez qui il ne naît occasionnellement que 2 microspores aux dépens d'une cellule-mère: *Convallaria multiflora*, *Aconitum Napellus*, *Asparagus officinalis*, etc. (voir COULTER et CHAMBERLAIN, 1903, p. 125).

En deuxième lieu, les études encore trop peu nombreuses faites sur les hybrides végétaux ont montré qu'une des principales causes de la stérilité du pollen et des irrégularités si variées et si nombreuses que l'on observe dans leur microsporogénèse tient à un »Vegetativwerden« (JUEL) des microsporocytes. Et cette »somatisation« se traduit, comme je l'ai signalé au cours des pages précédentes, par des apparences tout à fait semblables à celles que j'ai observées dans les cellules-nourricières: mitoses

anormales, affinité très grande du protoplasme pour les colorants, non-formation de membranes entre les noyaux, déformations et dégénérescence des noyaux, vacuolisation du plasma, etc. Ces analogies très grandes entre les microsporocytes des hybrides stériles et les cellules-tapètes ont frappé plusieurs auteurs (Juel, Gates, Tischler).

Or Tischler (1908) a observé, chez *Mirabilis Jalapa* × *M. tubiflora*, que »recht häufig bemerkt man in einer Mutterzellmembran nicht vier, sondern nur zwei Zellen; die Kerne sind somit hier nicht mehr in die homöotype Mitose getreten, sondern haben sich nach der ersten Teilung in einen Ruhezustand begeben« (p. 47). Et on peut spécialement rapprocher ce cas de celui des cellules-tapètes de l'*Adoxa* et de *Nymphæa*.

Dans *Gossypium barbadense* × *G. herbaceum*, d'après Cannon (1903), la dégénérescence des cellules-mères du pollen commence durant les stades présynaptiques; ceci fournit une transition vers les cas où ces cellules-mères ne se diviseraient même pas, cas qui a été observé par Juel chez *Syringa Rothomagensis*, et par Tischler (1908) chez *Potentilla Tabernæmontani* × *P. rubens*, — et, d'une manière plus proche encore des cellules-tapètes, chez *Syringa chinensis*, où les cellules-mères ne se divisent pas, mais ne dégénèrent pas immédiatement. Et l'analogie avec le cas des cellules-nourricières de l'Hellébore est frappante.

Ainsi donc le fait que dans certaines plantes les cellules-nourricières ne deviennent pas quadrinucléées n'est pas une difficulté; au contraire même, on pourrait dire qu'il fournit un très fort argument en faveur de l'origine goniale de ces cellules, par suite des rapprochements très frappants et très étroits que l'on peut facilement établir avec les apparences que présentent les microsporocytes «somatisés» des hybrides stériles.

Une troisième raison qu'invoque Rosenberg (1899) en faveur de la parenté des cellules-nourricières et des cellules-mères du pollen, est que, d'après lui, chez *Drosera*, les deux périodes mitotiques successives qui rendent quadrinucléée chaque cellule-nourricière s'effectuent à peu près dans le même temps que les deux divisions allotypiques, »so daß vier Kerne in den Tapetenzellen auftreten, etwa dann wenn die Tochterkerne des zweiten Teilungsschritts der Pollenmutterzellen fertig gebildet sind.« Une pareille coïncidence a été observée par Mottier (1897) chez *Podophyllum*, car on y observe, »besonders wenn die Pollenmutterzellen sich teilen, fast immer auch sich teilende Kerne in einzelnen Tapetenzellen« (p. 36).

Cette coïncidence ne s'est pas retrouvée dans les exemples que j'ai étudiés, et, fait remarquable, les cinèses des noyaux-tapètes m'ont paru toujours en avance sur celles des microsporocytes. Ainsi, dans la figure 6,

relative au *Fuchsia*, presque toutes les cellules ont plus d'un noyau; plusieurs en montrent quatre, et cependant la division hétérotypique n'est pas encore effectuée.

Dans la figure 12, relative encore au *Fuchsia*, deux cellules montrent chacune quatre noyaux, et cependant cette figure a été prise dans une anthère où les cellules-mères étaient encore au strepsinema.

Dans la figure 5, relative au *Yucca*, la plupart des cellules ont deux noyaux, et ici encore les cellules-mères définitives n'ont pas atteint le synapsis. De même dans la Belladone, dans l'Asphodèle, etc. De même, encore, d'après GATES (1907) chez *Œnothera lata*. Dans cette plante, durant le stade quiescent des noyaux des microsporocytes, les cellules-tapètes sont uninucléées; mais, durant les premiers stades présynaptiques, le noyau de chacune d'elles se divise mitotiquement, et durant quelque temps les cellules-nourricières demeurent binucléées.

Ces faits ne sont pas en accord avec ceux que signale ROSENBERG, et par conséquent la coïncidence qu'il a observée dans le *Drosera* doit être considérée comme fortuite, et ne saurait être considérée comme empreinte d'une grande signification. Remarquons d'ailleurs que, même chez *Drosera*, ce synchronisme n'est pas parfait, puisque ROSENBERG dit que la première division mitotique des noyaux-tapètes a lieu alors que »die Pollenmutterzellen bereits gebildet sind, sich aber noch nicht zu teilen begonnen haben« (p. 102).

Enfin une dernière remarque que je ferai au sujet de ces mitoses est qu'elles ne possèdent pas du tout, dans l'ensemble des diverses cellules-nourricières d'un même sac pollinique, ni même à un niveau donné de ce sac, le synchronisme si remarquable qui est une loi générale pour les cellules-mères du pollen. Tandis que, dans un sac pollinique donné, celles-ci sont toujours toutes en synapsis, ou toutes à la métaphase I, ou toutes à l'anaphase II, par exemple, on observe au même instant et dans la même coupe des cellules-tapètes à 1, 2 ou 4 noyaux, des noyaux en division, d'autres au repos, etc.

Mais à ce propos il faut signaler deux observations très remarquables:

1. GATES (1907), signale, que, chez *Œnothera lata*, "this first nuclear division in the tapetal cells may take place almost simultaneously throughout a loculus, so that many mitotic figures in various stages are often found in the same section" (p. 85).

2. TISCHLER (1906b), dans l'hybride *Bryonia alba* ♀ × *Bryonia dioica* ♂, observe (note de la p. 86), que les divisions des sporocytes ne s'effectuent plus synchroniquement dans un même sac pollinique. »So

konnten selbst noch Kerne der Pollenmutterzellen gefunden werden, die sich erst zur I. Mitose anschickten, während andre schon beide Tetradenteilungen vollendet hatten.«

Et parallèlement cet hybride était stérile. Le rapprochement de ces deux observations, surtout si on les compare avec ce que j'ai déjà dit sur les hybrides végétaux stériles et les irrégularités de leur microsporogénèse, ne laisse pas que d'être suggestif.

Il serait d'une grande importance au point de vue de la question de l'origine première des cellules-tapètes, et d'un intérêt considérable pour la cytologie générale, de retrouver dans ces cellules des aspects qui se réalisent normalement dans les cellules-mères du pollen, par exemple le phénomène du synapsis.

J'ai effectué à ce sujet de longues recherches, pour tâcher de déceler ce phénomène, ne fût-ce qu'à l'état de traces, mais je n'ai dans aucun cas réussi à trouver quelque apparence de ce genre[1]).

Ainsi donc l'étude des noyaux-tapètes et des mitoses auxquelles ils donnent naissance nous a fourni des arguments troublants en faveur de l'origine archesporiale des cellules-nourricières, et ces arguments sont, on l'a vu, particulièrement tirés de la comparaison de ces cellules avec les microsporocytes somatisés des hybrides partiellement ou totalement stériles.

Mais une raison décisive au sujet de la parenté des cellules goniales et des cellules du tapetum nous sera fournie par l'étude de certains modes de différenciation de ce tissu.

J'ai dit que d'une manière extrêmement générale le tapetum se différencie aux dépens des parois de l'anthère, par une cloison tangentielle qui se forme après l'individualisation des archespores, et dans ce cas la question de la parenté des cellules-tapètes et des cellules goniales revient à savoir si cette couche cellulaire n'évoluait pas elle aussi originairement dans le sens reproducteur.

Or cette question est singulièrement éclairée par certains processus spéciaux de différenciation du tapetum. Laissant de côté un certain

---

[1]) Cependant, et contrairement à ce que pense Němec (1910) (p. 493), on connaît des phénomènes de contraction synaptique dans des cellules indiscutablement somatiques: Lagerberg (1909) figure (fig. 11, p. 53) des synapsis indiscutables dans le tissu conducteur du style de *Adoxa moschatellina*; — et Rosenberg (1909) dans les tissus somatiques d'une anthère de *Drosera obovata*, sous l'influence de la piqûre d'un insecte (p. 47).

nombre d'observations douteuses ou peu précises, je m'en tiendrai aux recherches de ROSENBERG (1901) sur *Zostera marina*. Dans cette plante les archespores sont très allongées et très étroites, disposées obliquement par rapport aux parois du sac pollinique. Or on constate que beaucoup, sinon toutes, séparent à leurs extrémités de petites cellules très courtes, presque isodiamétriques, »die deutlich zeigen, daß sie durch Abspaltung von den längeren Zellen entstanden sind.« Or »diese Zellen sind die Tapetenzellen, die also hier dem Archespor angehören« (voir fig. 1 de ROSENBERG).

A la suite de la discussion précédente, deux hypothèses sont permises:

1. Les cellules-nourricières sont réellement des archespores somatisées, cette origine demeurant bien visible dans *Zostera*, mais étant masquée dans la très grande majorité des cas par l'ordre des cloisonnements;

2. ou, comme le pensent COULTER et CHAMBERLAIN (1903): "The tapetum has no definite boundary or origin, but results from pressing into special physiological service the sterile cells, of whatever origin, contiguous to the sporogenous tissue" (p. 36).

A la suite des résultats que m'a fournis la première partie de cette discussion, relative à des tapetums différenciés aux dépens des parois de l'anthère, je pencherais plutôt en faveur de la première hypothèse.

2. Quelques remarques.

Après avoir établi les relations qui paraissent exister entre les cellules-tapètes et les cellules archesporiales, on pourrait chercher à élargir encore le champ des comparaisons, et tenter d'analyser les ressemblances et les différences qui existent entre le tapetum et des organes de fonctions analogues. C'est ainsi que la recherche des analogies que les cellules-nourricières peuvent présenter avec les cellules des follicules ovariens, — particulièrement dans les cas d'adelphophagie —, et avec les cellules sécrétrices bien différenciées serait particulièrement intéressante.

Je ne me livrerai pas cependant à ces comparaisons, car la base d'observations ne me paraît pas encore suffisamment étendue pour les faire fructueuses et solidement établies. Pour que ces comparaisons aient une réelle valeur, il faut élargir et approfondir encore la connaissance des phénomènes. Nous avons vu que déjà les quelques plantes que j'ai étudiées montrent des différences sensibles au point de vue de l'évolution des tapetums: tapètes devenant multinucléés de *Cobœa*, tapètes redevenant uninucléés de *Datura*, tapètes demeurant constamment uninucléés

de l'Hellébore; — tapètes sans formations intracytoplasmiques différenciées de *Wickstrœmia* et de *Mirabilis*; — tapètes à ergastoplasme de *Cobœa scandens*; — tapètes à chromidies du *Datura*, de l'Hellébore; — tapètes plus ou moins vacuolisés, etc. De nouvelles recherches accroîtront sans doute encore le nombre de ces variations, mais aussi feront connaître des types intermédiaires, et permettront sans doute de distinguer quelques schémas fondamentaux autour desquels on pourra grouper les cas étudiés.

D'autre part il convient d'étudier en détail les tapètes sécréteurs des Ptéridophytes, et d'y rechercher des images analogues à celles que l'on connaît dans les cellules sécrétrices et glandulaires typiques.

Alors seulement on pourra rechercher les analogies, voir quelles sont les particularités de la physiologie des cellules-tapètes que l'on peut rapporter à leur fonctionnement comme cellules glandulaires, et à quoi on doit attribuer leur état polynucléé et les karyogamies consécutives.

Je signalerai cependant, très brièvement d'ailleurs, l'analogie extrêmement précise qui existe entre l'évolution des cellules nourricières du pollen et celle des antipodes des sacs embryonnaires des Angiospermes. Les détails des phénomènes qui se produisent dans ces antipodes nous sont assez bien connus, en particulier depuis le travail de Huss (1906), travail dans lequel on trouvera la bibliographie complète de la question. Cela m'entraînerait trop loin que d'étudier dans le détail les ressemblances très grandes entre les processus que lui et d'autres auteurs ont mis en évidence dans ces antipodes, une fois que la fécondation a été effectuée et durant les premiers temps du développement de l'embryon, avec ceux qui se produisent dans les cellules-nourricières du pollen; elles apparaissent d'ailleurs nettement en confrontant son mémoire et le mien; mais, en ce qui concerne les modifications de l'appareil nucléaire, le parallélisme est très grand (multiplication des noyaux dans chaque cellule antipode, cette multiplication se faisant par voie karyokinétique, — mitoses anormales —, fusions nucléaires et noyaux de formes irrégulières). Ceci n'a d'ailleurs rien que de très naturel, car les fonctions physiologiques des cellules-tapètes et des antipodes sont très comparables.

VI. Résumé.

1. Les noyaux des cellules nourricières ont dès le début de l'évolution de celles-ci une structure assez différente de celle des noyaux des cellules somatiques ordinaires, — structure caractérisée essentiellement par le nombre et la grande taille des nucléoles, et par l'abondance de la chromatine.

2. Dans la plupart des plantes (sauf l'Hellébore), les cellules nourricières deviennent plurinucléées, et cette multiplication des noyaux s'effectue de la manière suivante:

a) le noyau primitif se divise par mitose en 2 noyaux F_2;

b) ceux-ci, dans la plupart des plantes (exceptions: *Nymphœa*, *Adoxa*, *Silphium*) se divisent à leur tour, et toujours synchroniquement, en engendrant 4 noyaux F_3;

c) ces 4 noyaux F_3 ne paraissent plus se diviser mitotiquement.

3. Au cours de ces diverses karyokinèses, il peut apparaître des irrégularités d'ordre et de nature variables, mais tendant à engendrer des noyaux de formes aberrantes (en sablier, en haltère, etc.).

4. Parallèlement aux phénomènes de multiplication nucléaire, qui tendent à rendre la cellule polyénergide, se produit un processus inverse, qui tend à centrer à nouveau la cellule autour d'un noyau unique. Ces phénomènes de karyogamie se préparent par un rapprochement des noyaux et une concentration de la chromatine le long des surfaces de contact. Puis, après fusion, de nouvelles modifications interviennent dans la répartition de la chromatine, de manière à rendre au synkaryon son équilibre interne. Ces fusions peuvent s'effectuer entre deux ou plus de deux noyaux.

5. Les noyaux polyploïdes ainsi produits se divisent mitotiquement, et les mitoses sont naturellement hyperchromatiques; de plus les chromosomes présentent quelques variations de forme par rapport aux chromosomes somatiques ordinaires.

6. Ces mitoses peuvent être suivies de karyogamies entre les noyaux auxquels elles donnent naissance, et ce processus plusieurs fois répété engendre des synkaryons de valence très élevée.

7. A mesure que la valence des synkaryons augmente, il semble que les mitoses qu'ils produisent tendent à devenir de plus en plus irrégulières, cette irrégularité consistant en une répartition des chromosomes, à la télophase, non pas en un seul noyau à chaque pôle, mais en plusieurs petites vésicules communiquant plus ou moins largement entre elles.

8. Les phénomènes d'amitose ne paraissent pas exister dans les cellules nourricières. Toutes les apparences qu'on leur a attribuées s'expliquent par des irrégularités mitotiques et des fusions nucléaires.

9. Dans quelques cas les karyogamies l'emportent sur les divisions mitotiques et les irrégularités qu'elles présentent, et finalement rendent à la cellule âgée son état uninucléé (*Datura*, Jusquiame). Dans d'autres cas c'est le contraire qui a lieu (*Cobœa*).

10. Dans le plasma des cellules nourricières se produisent parallèlement des variations:

a) le plasma se vacuolise fortement;

b) il retient avec une intensité sans cesse croissante les colorants basiques;

c) il y apparaît des formations filamenteuses qui fixent la laque ferrique d'hématoxyline. Les unes sont de l'ergastoplasme; les autres des différenciations chromidiales, qui paraissent devoir être rapprochées, non pas des chondriosomes, mais du chromidium de l'*Ascaris*.

11. Les cellules nourricières paraissent être des cellules archesporiales redevenues végétatives. Elles offrent des analogies complètes avec les microsporocytes abortifs des hybrides stériles.

Toulouse. — Faculté des Sciences de l'Université — 1er Juin 1911.

Index Bibliographique.

1. Beer, R. 1905. On the development of the pollen grain and anther of some Onagraceae. Beih. z. Botan. Centralbl. I. 19.
2. —— 1907. The supernumerary pollen-grains of Fuchsia. Annals of Botany. XXI.
3. —— 1911. Studies in spore development. Ann. of Botany. XXV.
4. Blazek, J. 1902. Über den Einfluß der Benzoldämpfe auf die pflanzliche Zellteilung. Abh. der böhm. Akad. Prag.
5. Bonnet, J. 1911a. Les phénomènes nucléaires corrélatifs de la dégénérescence dans les cellules-nourricières du pollen de Yucca gloriosa. Comptes-Rendus Soc. Hist. Natur. Toulouse. Séance du 1er Février 1911.
6. —— 1911b. Ergastoplasme et mitochondries chez les Végétaux. Ibidem. Séance du 15 Février 1911.
7. —— 1911c. Sur les fusions nucléaires sans caractère sexuel. Comptes Rendus Académie Sciences Paris. CLII.
8. —— 1911d. L'ergastoplasma chez les Végétaux. Anat. Anzeiger. XXXIX.
9. —— 1911e. Sur le groupement par paires des chromosomes dans les noyaux diploïdes. Arch. f. Zellf. VII.
10. Bonnevie, K. 1908a. Chromosomenstudien I. Arch. f. Zellf. I.
11. Bonnevie, K. 1908b. Chromosomenstudien II. Heterotypische Mitose als Reifungscharakter nach Untersuchungen an Nereis limbata Ehlers, Thalassema mellita Conn. und Cerebratulus lacteus Hubr. Arch. f. Zellf. II.
12. Bouin, M. et P. 1898. Sur le développement de la cellule-mère du sac embryonnaire des Liliacées, et en particulier sur l'évolution des formations ergastoplasmiques. Arch. Anat. microscop. II.
13. Boveri, Th. 1905. Zellen-Studien, Hft. 5: Über die Abhängigkeit der Kerngröße und Zellenzahl der Seeigel-Larven von der Chromosomenzahl der Ausgangszellen. Jena.

14. Brachet, A. 1910. La polyspermie expérimentale comme moyen d'analyse de la fécondation. Arch. f. Entwicklungsmechanik. XXX. 1.
15. Buscalioni, L. 1898. Osservazioni e ricerche sulla cellula vegetale. Annuario del R. Istituto Botanico di Roma. VII.
16. Cannon, W. A. 1903. Studies in plant hybrids. The spermatogenesis of hybrid cotton. Bull. Torrey bot. Club. XXX.
17. Chatton, E. 1910. Essai sur la structure du noyau et la mitose chez les Amœbiens. Faits et théories. Arch. Zoolog. expérim. (de Lacaze-Duthiers). V. 5. no. 6.
18. Corry, T. H. 1884. On the mode of development of the pollinium in Asclepias Cornuti. Transact. of Linn. Soc. London. Botany. II.
19. Coulter, J. M. 1898. Contribution to the life-history of Ranunculus. Botan. Gazette. XXV.
20. Coulter, J. M. and Chamberlain, C. J. 1903. Morphology of Angiosperms. New-York.
21. Crato, E. 1892a. Beitrag zur Kenntniss der Protoplasmastrukturen. Berichte D. Botan. Gesell. X.
22. —— 1892b. Die Physode, ein Organ des Zellenleibes. Ibidem. X.
23. Derschau, M. von. 1907. Über Analogieen pflanzlicher und tierischer Zell-Strukturen. Beih. botan. Centralb. 1. Abteil. XXII.
24. —— 1908. Beiträge zur pflanzlichen Mitose, Centren, Blepharoplasten. Jahrb. wiss. Bot. XLVI.
25. —— 1910. Zur Frage eines Macronucleus der Pflanzenzellen Arch. f. Zellf. IV.
26. Dixon, H. H. 1896. Note on the nuclei of the endosperm of Fritillaria imperialis. Proceed. of the R. Irish. Acad. III. 3.
27. Dobell, C. C. 1909. Chromidia and the binuclearity hypotheses: a review and a criticism. Quart. Journ. of microscop. Science. LIII.
28. Dop, P. 1903. Recherches sur la structure et le développement de la fleur des Asclépiadées. Thèse Paris (Sc. Natur.).
29. Duesberg, J. 1910a. Les chondriosomes des cellules embryonnaires du Poulet et leur rôle dans la génèse des myofibrilles. Arch. f. Zellf. IV.
30. —— 1910b. Sur la continuité des éléments mitochondriaux des cellules sexuelles et des chondriosomes des cellules embryonnaires. Anat. Anz. XXXV.
31. —— 1910c. Nouvelles recherches sur l'appareil mitochondrial des cellules séminales. Arch. f. Zellf. VI.
32. Duesberg, J. et Hoven, H. 1910. Observations sur la structure du protoplasme des cellules végétales. Anat. Anz. XXXVI.
33. Ehrlich, R. 1909. Die physiologische Degeneration der Epithelzellen des Ascarisdarmes. Ein Beitrag zur Zellpathologie. Arch. f. Zellf. III.
34. Ernst, A. 1901. Beiträge zur Kenntnis der Entwicklung des Embryosackes und des Embryos (Polyembryonie) von Tulipa gesneriana L. Flora LXXXVIII.
35. Fischer, A. 1899. Fixierung, Färbung und Bau des Protoplasmas. Jena.
36. Gates, R. R. 1907. Pollen development in hybrids of Œnothera lata × Œ. Lamarckiana, and its relation to mutation. Bot. Gazette. XLIII.
37. —— 1909. The stature and chromosomes of Œnothera gigas De Vries. Arch. f. Zellf. III.

38. Geerts, J. M. 1909. Beiträge zur Kenntnis der Cytologie und der partiellen Sterilität von Œnothera Lamarckiana. Recueil des Travaux botaniques Néerlandais. V.
39. Gerassimow, J. J. 1904. Über die Größe des Zellkerns. Beih. botan. Centralbl. 1. Abteil. XVIII.
40. Godlewski E. junior. 1910. Plasma und Kernsubstanz im Epithelgewebe bei der Regeneration der Amphibien. Beitrag zur Analyse der Regenerationserscheinungen. Arch. f. Entwicklungsmechanik. XXX. 2.
41. Goebel, K. 1901. Organographie der Pflanzen II. Jena.
42. Goldschmidt, R. 1905. Der Chromidialapparat lebhaft funktionierender Gewebszellen (Histologische Untersuchungen an Nematoden II). Zoolog. Jahrb. Abt. f. Anatomie. XXI.
43. —— 1909. Das Skelet der Muskelzelle von Ascaris, nebst Bemerkungen über den Chromidialapparat der Metazoenzelle. Arch. f. Zellf. IV.
44. Goldschmidt, R. et Popoff, M. 1907. Die Karyokinese der Protozoen und Metazoenzelle. Arch. f. Protistenk. VIII.
45. Grégoire, V. et Wygaerts, A. 1903. La reconstitution du noyau et la formation des chromosomes dans les cinèses somatiques. I. Racines de Trillium grandiflorum et télophase homœotypique dans le Trillium cernuum. La Cellule. XXI.
46. Guieysse, A. 1907. Etude des organes digestifs chez les Crustacés. Arch. Anat. micr. IX.
47. Guignard, L. 1891. Nouvelles études sur la fécondation. Ann. Sc. Natur. (Botan.) VII. 14.
48. Häcker, V. 1895. Über die Selbständigkeit der väterlichen und mütterlichen Kernsubstanz während der Embryonalentwicklung von Cyclops. Arch. mikrosp. Anat. XLVI.
49. —— 1902. Über die Autonomie der väterlichen und mütterlichen Kernsubstanz vom Ei bis zu den Fortpflanzungszellen. Anat. Anz. XX.
50. Heidenhain, M. 1911. Plasma und Zelle. II. Jena.
51. Henneguy, F. 1896. Leçons sur la cellule. Paris.
52. Hoven, H. 1910. Sur l'histogénèse du système nerveux périphérique, chez le Poulet, et sur le rôle des chondriosomes dans la neurofibrillation. Arch. de Biologie. XXV.
52 bis. Huss, H. A. 1906. Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Antipoden. Inaug.-Dissert. Zürich.
53. Juel, H. O. 1897. Die Kernteilungen in den Pollenmutterzellen von Hemerocallis fulva und die bei denselben auftretenden Unregelmäßigkeiten. Jahrb. wiss. Bot. XXX.
54. —— 1900. Beiträge zur Kenntnis der Tetradentheilung. Jahrb. wiss. Bot. XXXV.
55. Kemp, H. P. 1910. On the question of the occurrence of «Heterotypical Reduction» in somatic cells. Ann. of Botany. XXIV.
56. Koernicke, M. 1896. Untersuchungen über die Entstehung und Entwicklung der Sexualorgane von Triticum, mit besonderer Berücksichtigung der Kerntheilungen. Verhandl. Naturhist. Ver. der Preuß. Rheinl. LIII.
57. —— 1901. Studien an Embryosack-Mutterzellen. Sitzungsb. der Niederrh. Gesell. für Natur- und Heilkunde zu Bonn. IV. 3.

58. Koernicke, M. 1905. Über die Wirkung von Röntgen- und Radiumstrahlen auf pflanzliche Gewebe und Zellen. Ber. D. botan. Gesell. XXIII.

59. Kostanecki, K. 1908. Zur Morphologie der künstlichen parthenogenetischen Entwicklung bei Mactra. Zugleich ein Beitrag zur Kenntnis der vielpoligen Mitose. Arch. f. mikroskop. Anat. LXXII.

60. Kundt, A. 1911. Die Entwicklung der Micro- und Macrosporangien von Salvinia natans. Beih. bot. Centralbl. 1. Abteil. XXVIII.

61. Küster, E. 1908. Aufgaben und Ergebnisse der entwicklungsmechanischen Pflanzenanatomie. Progressus Rei Botanicae. II.

62. Lagerberg, T. 1909. Studien über die Entwicklungsgeschichte und systematische Stellung von Adoxa moschatellina L. Kungl. Svenska Vetenskap. Akad. Handlingar. XLIV.

63. Laibach, F. 1907. Zur Frage nach der Individualität der Chromosomen im Pflanzenreich. Beih. bot. Centralb. 1. Abteil. XXII.

64. Lary de Latour, F. de. 1908. Sur des particularités cytologiques du développement des cellules-mères du pollen de l'Agave attenuata. C. R. Acad. Sc. Paris. CXLVI.

65. Lawson, A. A. 1898. Some observations on the development of the karyokinetic spindle in the pollen-mother-cells of Cobæa scandens Cav. Proceed. of the California Acad. of Sciences. III. 1.

66. Lécaillon, A. 1901. Recherches sur l'ovaire des Collemboles. Arch. Anat. microscop. IV.

67. —— 1910. La parthénogénèse chez les oiseaux. Segmentation et dégénérescence de l'œuf non fécondé. Ibidem. XII.

68. Leclerc du Sablon, M. 1908. Structure et développement de l'albumen du Caprifiguier. Rev. Gén. de Bot. XX.

69. Lewitsky, G. 1911. Über die Chondriosomen in pflanzlichen Zellen. Berichte D. bot. Gesell. XXVIII.

70. Lopriore, G. 1906. Über die Vielkernigkeit der Pollenkörner und Pollenschläuche von Araucaria Bidwillii Hook. Résult. Sc. du Congrès internat. de Bot. de Vienne. Jena.

71. Lubimenko, W. et Maige, A. 1907. Recherches cytologiques sur le développement des cellules-mères du pollen chez les Nymphéacées. Revue gén. de Bot. XIX.

72. Lundegård, H. 1910. Ein Beitrag zur Kritik zweier Vererbungshypothesen: Über Protoplasmastrukturen in den Wurzelmeristemzellen von Vicia Faba. Jahrb. wiss. Bot. XLVIII.

73. Maziarski, S. 1910. Sur les changements morphologiques de la structure nucléaire dans les cellules glandulaires. Contribution à l'étude du noyau cellulaire. Arch. f. Zellf. IV.

74. Merrell, W. D. 1900. A contribution to the life history of Silphium. Bot. Gazette. XXIX.

75 Meves, F. 1903. Über oligopyrene und apyrene Spermien und über ihre Entstehung, nach Beobachtungen an Paludina und Pygæra. Arch. f. mikr. Anat. LXI.

76. —— 1904. Über das Vorkommen von Mitochondrien bzw. Chondromiten in Pflanzenzellen. Berichte D. bot. Gesell. XXII.

77. Meves, F. 1907. Die Spermatocytenteilungen bei der Honigbiene (Apis mellifica L.), nebst Bemerkungen über Chromatinreduktion. Arch. f. mikr. Anat. LXX.
78. —— 1908. Die Chondriosomen als Träger erblicher Anlagen. Cytologische Studien am Hühnerembryo. Ibidem. LXXII.
79. —— 1910. Über Strukturen in den Zellen des embryonalen Stützgewebes, sowie über die Entstehung der Bindegewebsfibrillen, insbesondere derjenigen der Sehne. Ibidem. LXXV.
80. Meyer, A. 1911. Bemerkungen zu G. Lewitsky: Über die Chondriosomen in pflanzlichen Zellen. Berichte D. bot. Gesell. XXIX.
81. Mottier, D. M. 1897. Beiträge zur Kenntnis der Kernteilung in den Pollenmutterzellen einiger Dicotylen und Monocotylen. Jahrb. wiss. Bot. XXX.
82. Müller, Cl. 1909. Über karyokinetische Bilder in den Wurzelspitzen von Yucca. Jahrb. wiss. Bot. XLVII.
83. Němec, B. 1898. Über abnorme Kernteilungen in der Wurzelspitze von Allium cepa. Sitzungsb. der kön. böhm. Ges. der Wiss. Prag. II. Klasse.
84. —— 1899. Über die karyokinetische Kernteilung in der Wurzelspitze von Allium cepa. Jahrb. wiss. Bot. XXXIII.
85. —— 1904. Über die Einwirkung des Chloralhydrats auf die Kern- und Zellteilung. Jahrb. wiss. Bot. XXXIX.
86. —— 1910. Das Problem der Befruchtungsvorgänge, und andere zytologische Fragen. Berlin.
87. Overton, J. B. 1909. On the organization of the nuclei in the pollen-mother-cells of certain plants, with especial reference to the permanence of the chromosomes. Ann. of Botany. XXIII.
88. Pensa, A. 1910. Alcune formazioni endocellulari dei vegetali. Anat. Anz. XXXVII.
89. Pérez, Ch. 1910. Recherches histologiques sur la métamorphose des Muscides (Calliphora erythrocephala Mg.). — Arch. Zoolog. expérim. V. 4.
90. Peter, K. 1898. Die Bedeutung der Nährzellen im Hoden. Arch. f. mikr. Anat. LIII.
91. Prenant, A., Bouin, P. et Maillard, L. 1904. Traité d'Histologie. I. Paris.
92. Reichenow, E. 1908. Die Rückbildungserscheinungen am Anurendarm während der Metamorphose und ihre Bedeutung für die Zellforschung. Arch. f. mikr. Anat. LXXII.
93. Romieu, A. 1911. Sur les mouvements intracytoplasmiques des mitochondries. C. R. Soc. Biolog. Paris. LXX.
94. Rosenberg, O. 1899. Physiologisch-cytologische Untersuchungen über Drosera rotundifolia L. Inaug.-Diss. Uppsala.
95. —— 1901a. Über die Embryologie von Zostera marina L. Bihang Till K. Svenska Vet.-Akad. Handl. XXVII.
96. —— 1901b. Über die Pollenbildung von Zostera. Meddel. Stockholms Högsk. Bot. Instit.
97. —— 1904. Über die Tetradenteilung eines Drosera-Bastardes. Berichte D. bot. Gesell. XXII.
98. —— 1907. Cytological studies on the apogamy in Hieracium. Bot. Tidsskr. XXVIII.
99. —— 1909. Cytologische und morphologische Studien an Drosera longifolia × rotundifolia. Kungl. Svenska Vetensk. Akad. Handl. XLIII. Nr. 11.

100. Růžička, V. 1906. Struktur und Plasma. Ergeb. Anat. und Entwick. XVI.
101. Saame, O. 1906. Über Kernverschmelzung bei der karyokinetischen Kernteilung im protoplasmatischen Wandbelag des Embryosacks von Fritillaria imperialis. Berichte D. bot. Gesell. XXIV.
102. Sappin-Trouffy, P. 1896. Recherches histologiques sur les Urédinées. Le Botaniste. II.
103. Schniewind-Thies, J. 1897. Beiträge zur Kenntnis der Septalnectarien. Jena.
104. Servettaz, C. 1909. Monographie des Eléagnacées. Beih. bot. Centralbl. 2. Abteil. XXV.
105. Smirnow, A. E. von. 1906. Über die Mitochondrien und den Golgischen Bildungen analoge Strukturen in einigen Zellen von Hyacinthus orientalis. Anat. Hefte. XXXII.
106. Smólak, J. 1904. Über vielkernige Zellen bei einigen Euphorbiaceen. Bull. intern. de l'Acad. de Bohême.
107. Strasburger, E. 1880. Zellbildung und Zellteilung. Jena.
108. —— 1882. Über den Bau und das Wachstum der Zellhäute. Jena.
109. —— 1882. Über den Teilungsvorgang der Zellkerne und das Verhältnis der Kernteilung zur Zellteilung. Arch. f. mikr. Anat. XXI.
110. —— 1900. Über Reduktionsteilung, Spindelbildung, Centrosomen und Cilienbildner im Pflanzenreich. Jena.
111. —— 1907. Über die Individualität der Chromosomen und die Pfropfhybriden-Frage. Jahrb. wiss. Bot. XLIV.
112. —— 1909. Zeitpunkt der Bestimmung des Geschlechts, Apogamie, Parthenogenesis und Reduktionsteilung. Jena.
113. —— 1911. Kernteilungsbilder bei der Erbse. Flora. II. 2.
114. Tischler, G. 1900. Untersuchungen über die Entwicklung des Endosperms und der Samenschale von Corydalis cava. Verh. der nat. med. Ver. Heidelberg. VI.
115. —— 1901. Über Heterodera-Gallen an den Wurzeln von Circæa lutetiana L. Berichte D. bot. Gesell. XIX.
116. —— 1906a. Über die Entwicklung des Pollens und der Tapetenzellen bei Ribes-Hybriden. Jahrb. wiss. Bot. XLII.
117. —— 1906b. Über die Entwicklung der Sexualorgane bei einem sterilen Bryonia-Bastard. Berichte D. Bot. Gesell. XXIV.
118. —— 1908. Zellstudien an sterilen Bastardpflanzen. Arch. f. Zellf. I.
119. —— 1910. Untersuchungen über die Entwicklung des Bananenpollens. I. Arch. f. Zellf. V.
120. Tönniges, C. 1901. Beiträge zur Spermatogenese und Oogenese der Myriopoden. Zeitschr. f. wiss. Zoologie. LXXI.
121. Van Tieghem, P. 1891. Traité de Botanique. Paris.
122. Valle P. Della. 1909. L'organizzazione della cromatina studiata mediante il numero dei cromosomi. Archivio zoologico. IV.
123. Vejdovsky, F. 1907. Neue Untersuchungen über die Reifung und die Befruchtung. Kgl. böhm. Gesell. d. Wiss. Prag.
124. Voss, H. von. 1910. Beitrag zur Kenntnis der Eireifung bei den Acanthocephalen. Arch. f. Zellf. V.
125. Wasielewski, W. von. 1903. Theoretische und experimentelle Beiträge zur Kenntnis der Amitose. Jahrb. wiss. Bot. XXXVIII.

126. Wilson, E. B. 1901. Experimental Studies in Cytology. I. A cytological study of Artificial Parthenogenesis in Sea-Urchin Eggs. Arch. f. Entwicklungsmechanik. XII.
127. Winkler, H. 1906. Über Parthenogenesis bei Wickstrœmia indica. Botanische Untersuchungen aus Buitenzorg. II. 7. — Annales du jardin. bot. de Buitenzorg. II. 5.
128. Wisselingh, C. van. 1903. Über abnormale Kernteilung. Bot. Zeitung. LXI.
129. Woycicki, Z. 1906. Über die Einwirkung des Äthers und des Chloroforms auf die Teilung der Pollenmutterzellen und deren Produkte bei Larix dahurica. Bullet. intern. de l'Acad. des Sciences de Cracovie.
130. Zimmermann, A. 1893. Sammel-Referate aus dem Gesamtgebiete der Zellenlehre. Beih. bot. Centralbl. III.

Explication des figures.

Planches XXXIX—XLV.

Toutes les figures ont été dessinées, à la hauteur de la table de travail, à l'aide des combinaisons optiques indiquées pour chacune d'elles et de l'appareil de Abbe-Zeiss.

Les combinaisons optiques sont indiquées par deux chiffres, relatifs, le premier à l'objectif, le deuxième à l'oculaire:

1. Objectifs

8 = objectif apochrom. 8 mm. Zeiss,
3 = objectif apochrom. 3 mm. imm. homog. Zeiss,
2 = objectif apochrom. 2 mm. imm. homog. Leitz,
1,5 = objectif apochrom. 1,5 mm imm. homog. Zeiss.

2. Les chiffres relatifs aux oculaires indiquent les numéros des oculaires compensateurs de Zeiss.

Tirage du tube: 160 mm. pour les objectifs Zeiss,
170 mm. pour les objectifs Leitz.

A l'impression, les figures ont toutes été réduites de moitié; les grossissements réels des figures sont par suite les suivants:

8	× 8 = 160	environ
3	× 4 = 240	»
3	×12 = 625	»
3	×18 = 900	»
2	× 8 = 750	»
2	×18 = 1300	»
1,5	× 4 = 450	»
1,5	× 8 = 950	»
1,5	×12 = 1225	»
1,5	×18 = 1750	»

Les figures 1a à 17 sont insérées dans le texte; les figures 18 a à 114 forment les planches.

Les légendes des figures 1a à 17 sont inscrites au-dessous de chacune d'elles.

Fig. 18. *Fuchsia.* Mitoses conjuguées des deux noyaux F_2.
18a prophase. 3×18.
18b métacinèse. 3×18.
18c anaphase. 3×18.
18d télophase. 3×18.

Fig. 19. *Yucca gloriosa.* 2 mitoses conjuguées, dont une hyperchromatique, avec variations de forme des chromosomes. 1,5×18.

Fig. 20. *Fuchsia.* 2 mitoses conjuguées à axes inclinés l'un sur l'autre. 1,5×8.

Fig. 21. *Fuchsia.* 2 anaphases conjuguées à axes parallèles. 1,5×8.

Fig. 22. *Yucca gloriosa.* 2 métacinèses hyperchromatiques conjuguées, à axes perpendiculaires. 1,5×18.

Fig. 23. *Atropa Belladona.* 2 métacinèses conjuguées à axes perpendiculaires. Des granulations dans les champs polaires. 1,5×12.

Fig. 24. *Yucca gloriosa.* Première mitose du noyau d'une cellule-nourricière. Fuseau diarche-apolaire. 1,5×12.

Fig. 25. *Fuchsia.* Diaster anormal. 1,5×12.

Fig. 26. *Fuchsia.* Diaster anormal. 1,5×18.

Fig. 27. *Fuchsia.* Diaster anormal. 1,5×18.

Fig. 28. *Fuchsia.* Diaster anormal. 1,5×12.

Fig. 29. *Fuchsia.* Diaster anormal. Nombreuses granulations dans le protoplasme. 1,5×12.

Fig. 30a. *Fuchsia.* Noyau en haltère en prophase. 1,5×12.

Fig. 30b. *Fuchsia.* Diaster anormal. 1,5×12.

Fig. 31. *Fuchsia.* Diaster anormal. A côté, tache noire irrégulière représentant sans doute la coupe d'une cinèse à axe perpendiculaire sur celui de la première. 1,5×18.

Fig. 32. *Fuchsia.* Diaster anormal (tassements polaires en forme d'anneau). 1,5×18.

Fig. 33. *Fuchsia.* Début d'une anaphase très irrégulière. 1,5×12.

Fig. 34. *Fuchsia.* Deux diasters conjugués très anormaux, à axes parallèles. 1,5×8.

Fig. 35. *Fuchsia.* Deux anaphases conjuguées et à axes inclinés, très anormales. 1,5×18.

Fig. 36a, b, c. *Yucca gloriosa.* Trois coupes optiques successives dans une mitose quadripolaire. 1,5×12.

Fig. 37. *Atropa Belladona.* Un noyau en forme de sablier. 1,5×18.

Fig. 38. *Yucca gloriosa.* Deux noyaux très rapprochés avec accumulation de la chromatine le long des faces en regard. 3×12.

Fig. 39. — Ibidem. 3×12.

Fig. 40. — Ibidem. 3×12.

Fig. 41. — Ibidem. 3×12.

Fig. 42. — Ibidem. Remarquer les ondulations semblables des faces en regard des deux noyaux. 3×12.

Fig. 43. — Ibidem. 3×12.

Fig. 44. — Ibidem. 3×12.

Fig. 45. — Ibidem. 3×12.

Fig. 46. — Ibidem. 3×12.

Fig. 47. — Ibidem. 3×12.

Fig. 48. — Ibidem. 3×12.

Fig. 49. — Ibidem. 3×12.

Fig. 50. — Ibidem. 3×12.

Fig. 51. — Stade avancé d'une karyogamie. Bandes chromatiques accumulées vers le centre de la cavité du synkaryon. 1,5×12.

Fig. 52. *Yucca gloriosa.* Début d'une karyogamie. Accolement des deux noyaux. 1,5×18.

Fig. 53. *Yucca gloriosa.* Noyau irrégulier. 1,5×12.

Fig. 54a, b, c. *Yucca gloriosa.* Trois coupes optiques successives dans un synkaryon en voie d'élaboration. 1,5×18.

Fig. 55. *Yucca gloriosa.* Fin d'une karyogamie. Plus de concentration médiane de la chromatine. Le synkaryon a encore une forme irrégulière. 1,5×12.

Fig. 56. *Yucca gloriosa.* Le noyau sphérique paraît être un synkaryon régularisé. Au-dessus, une karyogamie en voie d'accomplissement. 1,5×12.

Fig. 57. *Yucca gloriosa.* Karyogamie. 1,5×12.

Fig. 58. *Yucca gloriosa.* Fin d'une karyogamie. Régularisation de la forme du synkaryon. 1,5×12.

Fig. 59. *Yucca gloriosa.* Deux noyaux en voie de fusion, et un troisième qui n'est sans doute pas un synkaryon comparable à celui que donnera la fusion des deux autres noyaux, en égard à son volume. 1,5×18.

Fig. 60. *Yucca gloriosa.* Deux noyaux réunis par une traînée de chromatine. 1,5×18.

Fig. 61. *Yucca gloriosa.* Un synkaryon triple. 2×18.

Fig. 62. — Ibidem. La gamie est moins avancée. 2×18.

Fig. 63. — Ibidem. Début de la gamie. 2×18.

Fig. 64. — Un synkaryon double. Des filaments chromidiaux dans le plasma. 2×18.

Fig. 65. — Mitose normale. 3×12.

Fig. 66. — Deux mitoses conjuguées hyperchromatiques. Fuseaux diarches-apolaires. 1,5×12.

Fig. 67. — Gamie entre 2 plaques anaphasiques. 1,5×8.

Fig. 68. *Fuchsia.* 3 noyaux; le médian est un synkaryon. Les 3 noyaux sont en prophase. 1,5×12.

Fig. 69. *Fuchsia.* Gamie entre 2 plaques anaphasiques de deux cinèses à axes obliques. 1,5×18.

Fig. 70. *Fuchsia.* Gamie entre 2 mitoses très anormales. 1,5×12.

Fig. 71. *Yucca gloriosa.* Deux métacinèses conjuguées, dont une très hyperchromatique. 1,5×12.

Fig. 72. *Fuchsia.* Spirème de forme irrégulière. 1,5×12.

Fig. 73. *Atropa Belladona.* Cinèse parallèle à l'axe longitudinal de la cellule. 1,5×8.

Fig. 74. *Fuchsia.* Deux métacinèses conjuguées, en vue polaire, de forme irrégulière. 1,5×12.

Fig. 75. *Yucca gloriosa.* Trois métacinèses conjuguées; la supérieure au moins est hyperchromatique. 1,5×12.

Fig. 76. *Yucca gloriosa.* Spirème d'un noyau très polyploïde. Les megachromosomes seuls sont indiqués. 1,5×18.

Fig. 77. *Yucca gloriosa.* Métacinèse très hyperchromatique. 67 megachromosomes. 1,5×18.

Fig. 78a et b. *Fuchsia.* Deux coupes (faites par le rasoir du microtome) d'une métacinèse hyperchromatique. Quelques chromosomes de longueur plus considérable. 1,5×12.

Fig. 79. *Fuchsia.* Une métacinèse très hyperchromatique. 1,5×18.

Fig. 80. *Hyoscyamus albus.* Un noyau d'une cellule des méristèmes ovariens. 1,5×12.

Fig. 81. *Hyoscyamus albus.* Deux noyaux d'une cellule-nourricière. 1,5×12.

Fig. 82. *Hyoscyamus albus.* Ibidem. 1,5×12.

Fig. 83a. *Fuchsia.* Une anaphase à plaques polaires obliques. 1,5×4.

Fig. 83b. *Cobœa scandens.* Mitose dans une jeune cellule-nourricière. Une granulation centrosomiforme. 1,5×12.

Fig. 84. *Fuchsia.* Noyau en haltère. 2×8.

Fig. 85. *Fuchsia.* Deux noyaux irréguliers. 2×8.

Fig. 86. *Yucca gloriosa.* Chromosomes d'une métacinèse d'une cellule-nourricière. 1,5×12.

Fig. 87. *Yucca gloriosa.* Ibidem. 1,5×18.

Fig. 88. *Yucca gloriosa.* Métaphase hétérotypique. 1,5×12.

Fig. 89. *Yucca gloriosa.* Ibidem. 1,5×18.

Fig. 90. *Asphodelus albus.* Monaster dans une cellule-nourricière. 1,5×12.

Fig. 91. *Fuchsia.* Métacinèse hyperchromatique, montrant les megachromosomes. 1,5×18.

Fig. 92. *Yucca gloriosa.* Karyogamie; remarquable symétrie de deux amas chromatiques. 1,5×18.

Fig. 93. *Hyoscyamus albus.* Début d'une karyogamie. Deux séries linéaires médianes de granules chromatiques. 1,5×12.

Fig. 94. *Hyoscyamus albus.* Karyogamie. 1,5×12.

Fig. 95. *Hyoscyamus albus.* Noyau amœboïde. 1,5×8.

Fig. 96. *Atropa Belladona.* Noyaux en haltère. 1,5×4.

Fig. 97. *Atropa Belladona.* Noyau hypertrophié. Début de karyorrhexis. 1,5×12.

Fig. 98. *Atropa Belladona.* Dans une cellule, 2 noyaux en spirème. Dans l'autre, plus de noyau; le plasma est refoulé contre la membrane par une énorme vacuole contenant des corps noirs. 1,5×12.

Fig. 99. *Atropa Belladona.* Noyau très vacuolisé. Karyorrhexis. Des nucléoles intacts; des corps de dégénérescence. 1,5×12.

Fig. 100. *Atropa Belladona.* A droite, deux noyaux en voie de dégénérescence englobés dans une vacuole. A gauche, il n'y a plus dans la vacuole que des corps de dégénérescence. 1,5×8.

Fig. 101. *Atropa Belladona.* Les noyaux sont en karyorrhexis. Un est encore intact; l'autre est digéré par une vacuole, dans laquelle se trouvent des corps de dégénérescence. 1,5×12.

Fig. 102. *Atropa Belladona.* Un noyau digéré par une vacuole. 1,5×8.

Fig. 103. *Hyoscyamus albus.* Cellule des méristèmes ovariens. Prochromosomes. 1,5 × 12.

Fig. 104. *Hyoscyamus albus.* Noyau pyknomorphique. 1,5×12.

Fig. 105. *Hyoscyamus albus.* Ibidem. 1,5×12.

Fig. 106. *Fuchsia.* Granulations noires. Formations en forme d'anneaux (leucoplastes). 1,5×12.

Fig. 107. *Fuchsia.* Granulations noires. Formations en forme d'anneaux. Filaments chromidiaux. 1,5×8.

Fig. 108. *Atropa Belladona.* Noyau en spirème déformé par les vacuoles plasmatiques. 1,5×12.

Fig. 109. *Atropa Belladona.* Vacuolisation du plasma. Noyaux déformés. 1,5×4.

Fig. 110. *Atropa Belladona.* Vacuolisation intense du cytoplasme. Noyaux déformés et mitoses. 1,5×4.

Fig. 111. *Yucca gloriosa.* Formations en forme d'anneaux. Filaments chromidiaux. 1,5×8.

Fig. 112. *Yucca gloriosa.* Etat plus jeune. Filaments chromidiaux plus petits. Des anneaux. 1,5×8.

Fig. 113. *Datura Stramonium.* Vacuolisation du plasma. Formations chromidiales. 1,5×8.

Fig. 114. *Cobœa scandens.* Cinèse dans une archespore. Fuseau diarche-apolaire. Granulations. 1,5×12.

Druck von Breitkopf & Härtel in Leipzig.

18a.

18b.

18c.

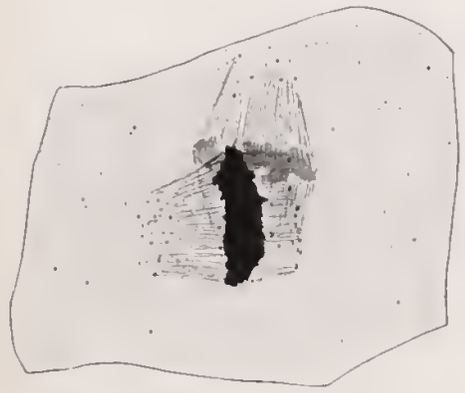
18d.

19.

20.

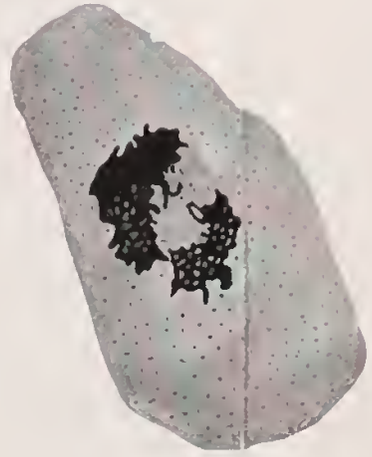
21.

22.

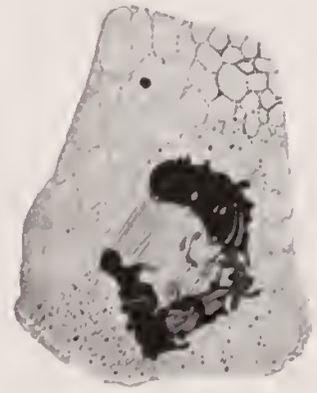


23.

24.

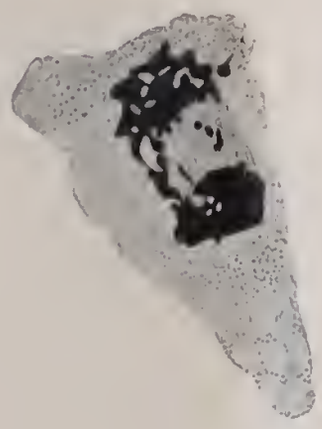


25.

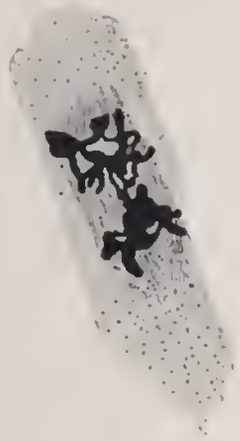


26.

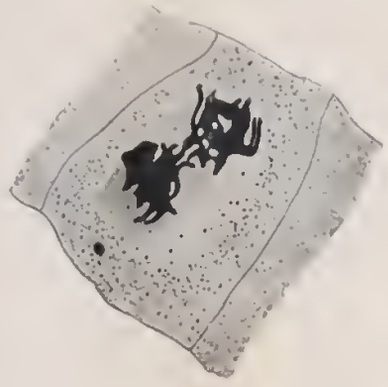
Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig.



27.

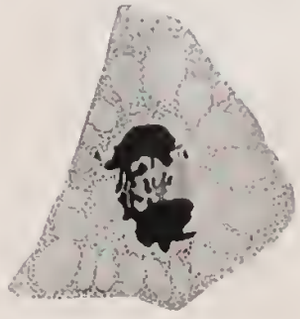


28.

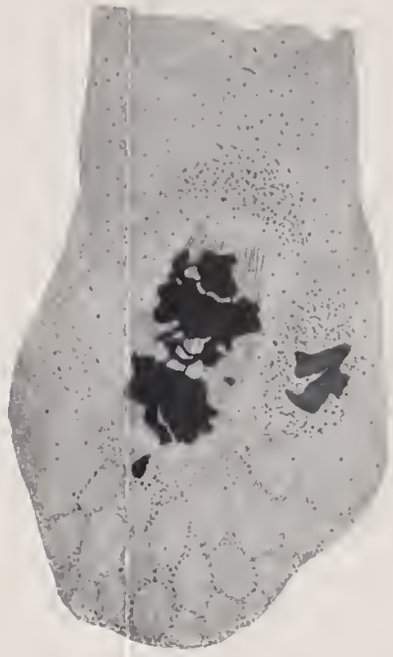


29.

30a.



30b.



31.

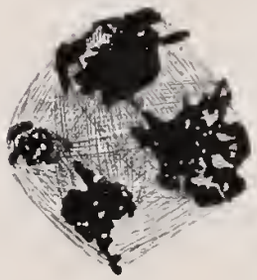
32.

33.

34.

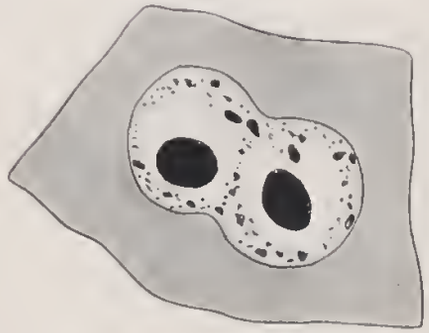
35.

36a.



36b.

36c.



37.

38.

39.

40.

41.

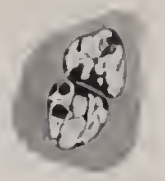
42.

43.

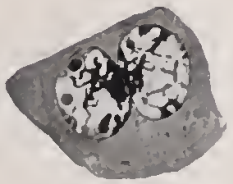
44.

Bonnet.

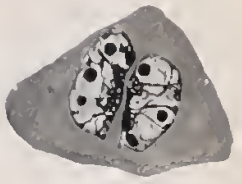
Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig.



45

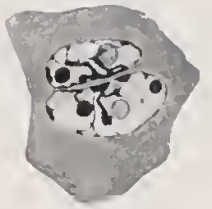


47.

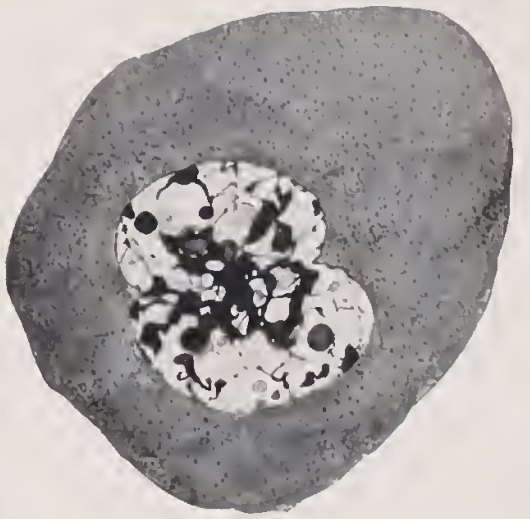


48.

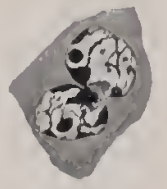
49.



50



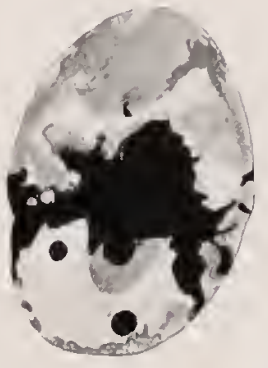
51.



46.

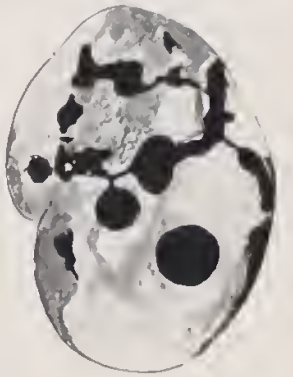
52

53.

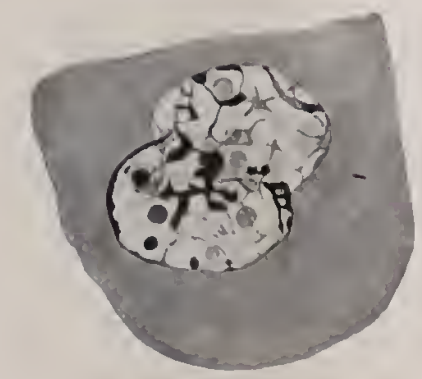


54a.

54b.

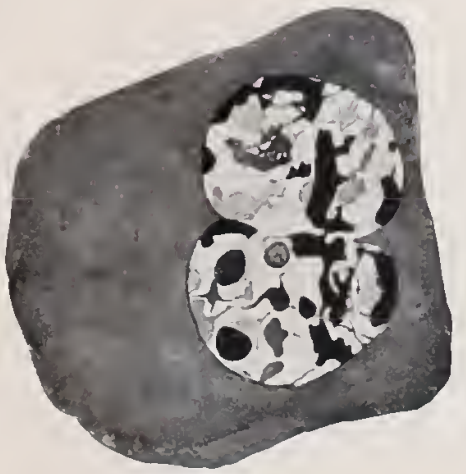


54c.

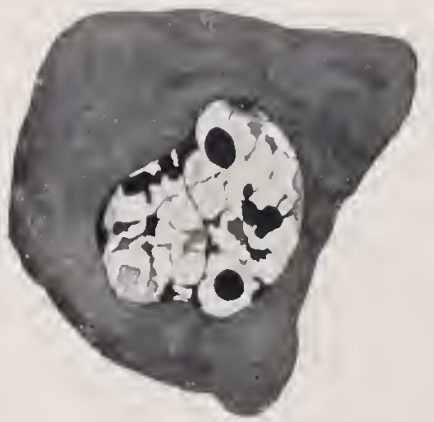


55.

56.



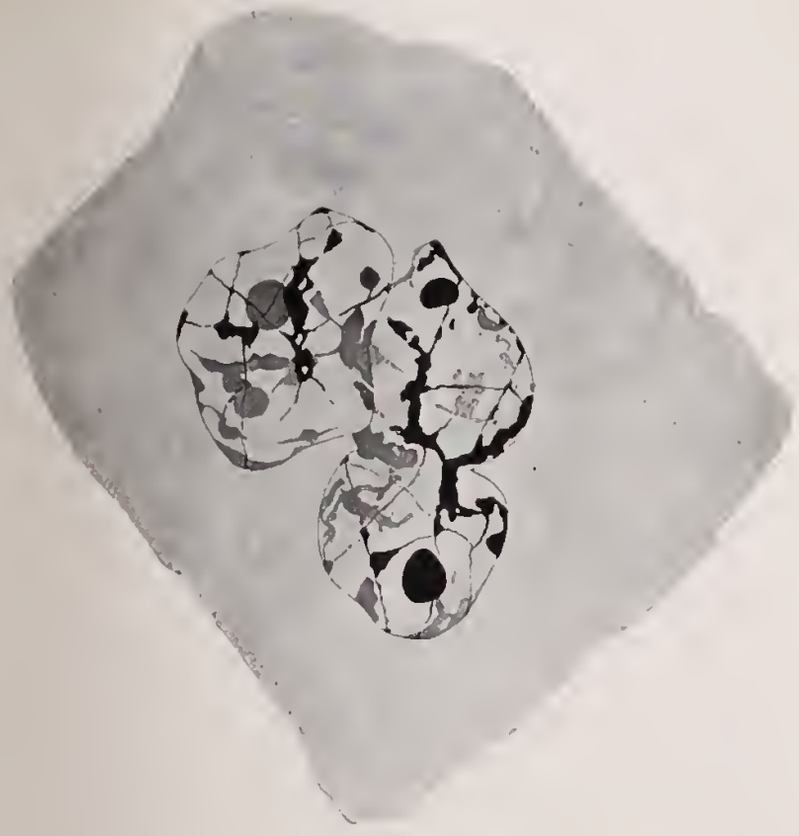
57.



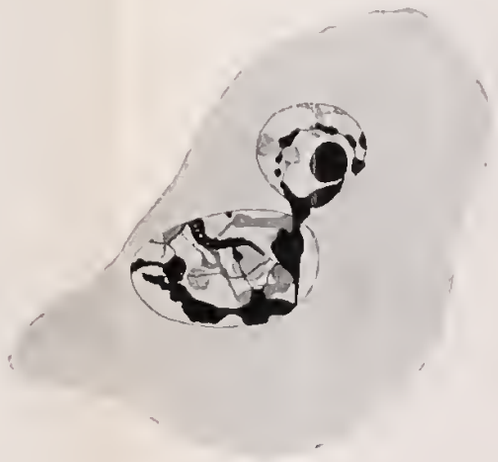
58.

Bonnet.

Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig.

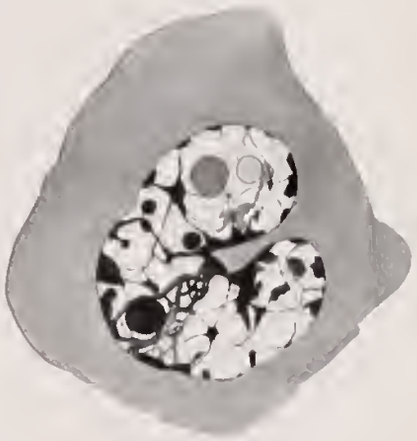


59.

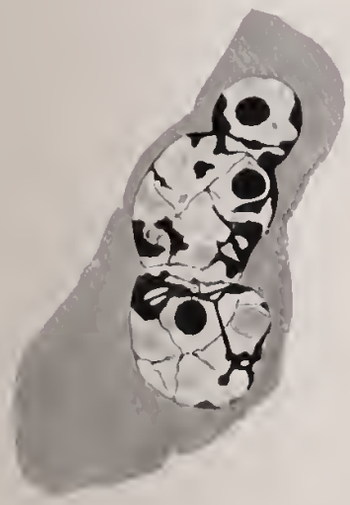


60.

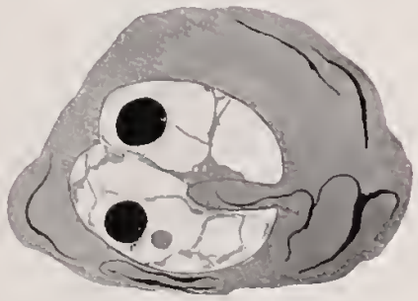
61.



62.



63.

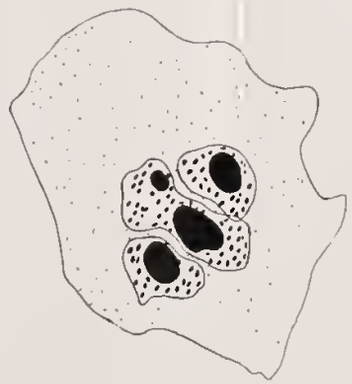


64.

65.

66.

67.



68.

69.

70.

Bonnet.

Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig.

71.

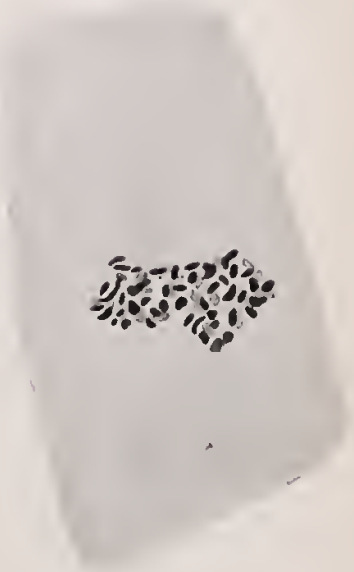
72.

73.

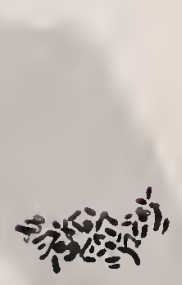
74.

75.

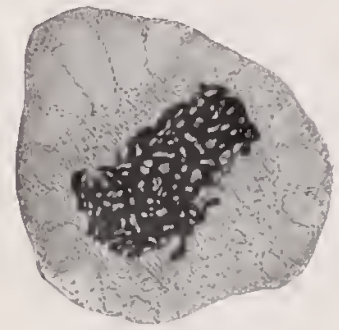
76



78a.



78b.



79.

80.

81.

77

82.

83a.

83b.

84.

85.

86.

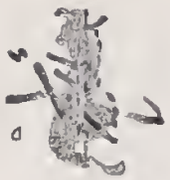
Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig.

87.

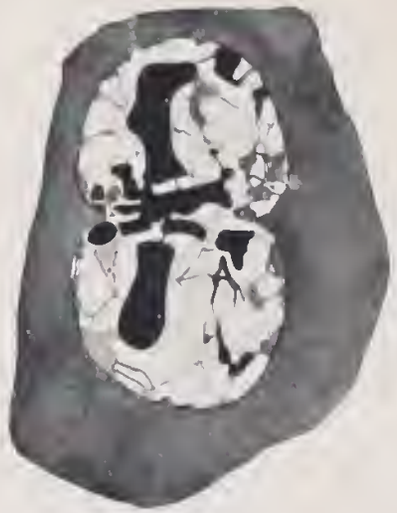
88.

89.

90.



91.

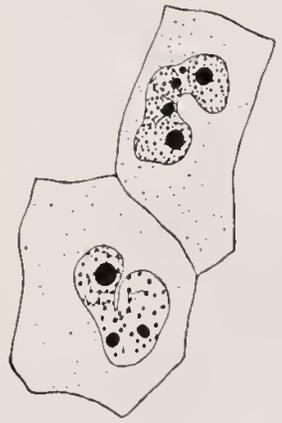


92.

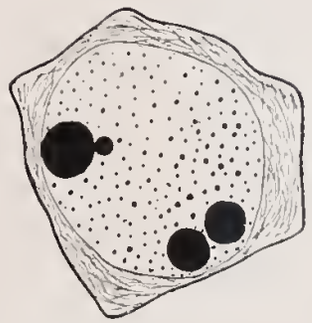
93.

94.

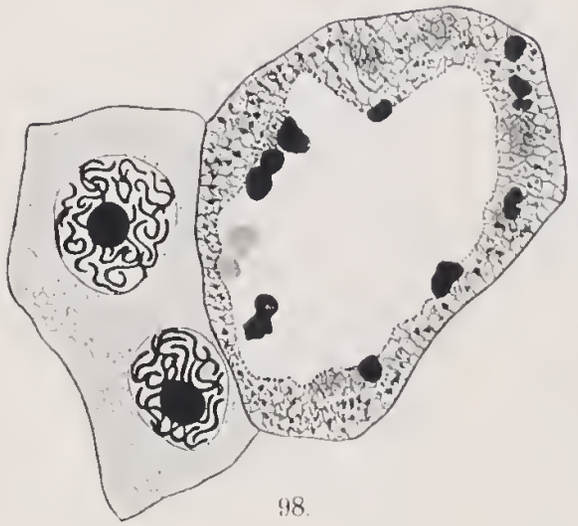
95.



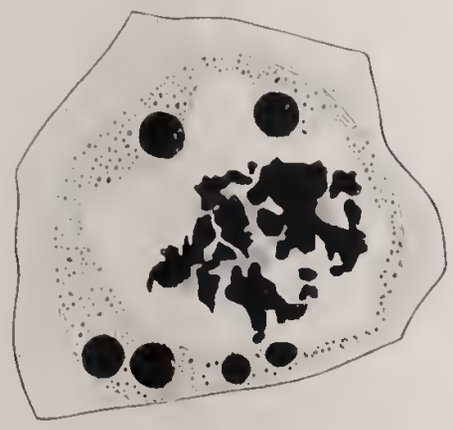
96.



97.

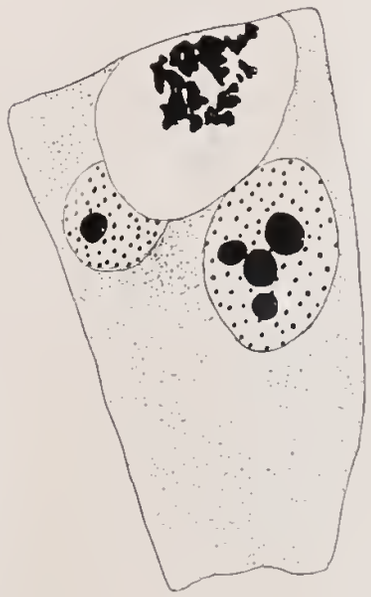


98.

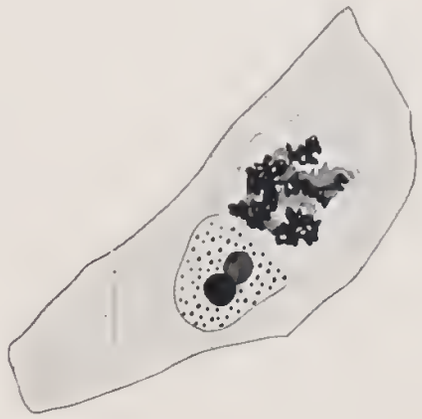


99.

100.



101.

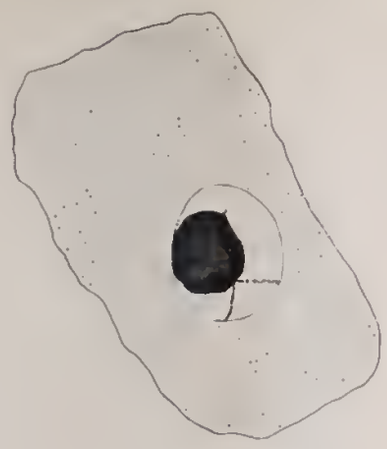


102.

103.

Bonnet.

Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig.



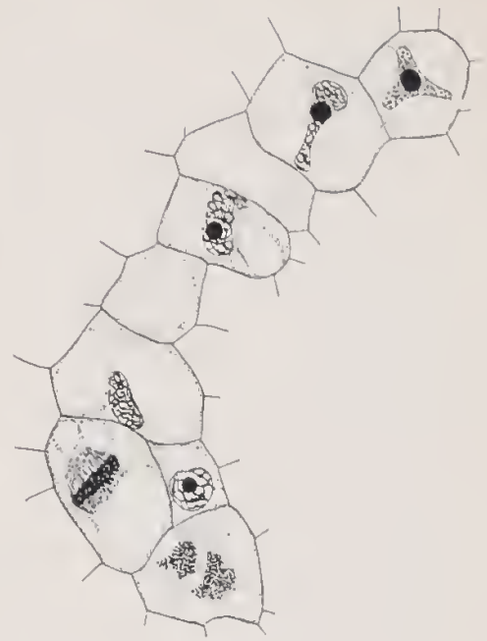
104.

105.

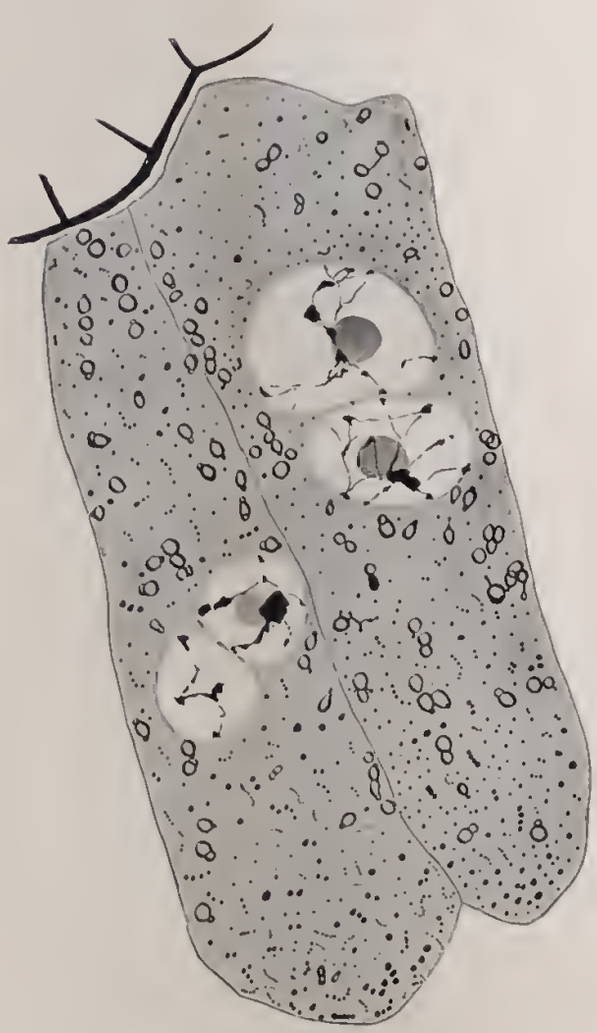
107.

108.

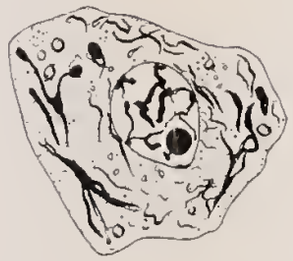
109.



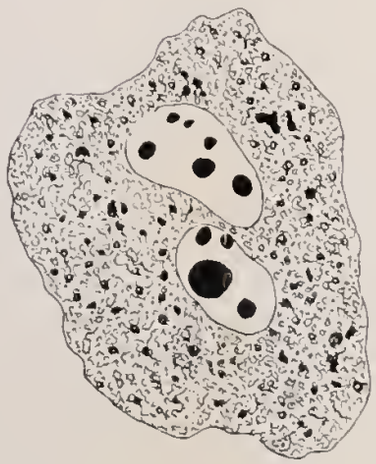
110.



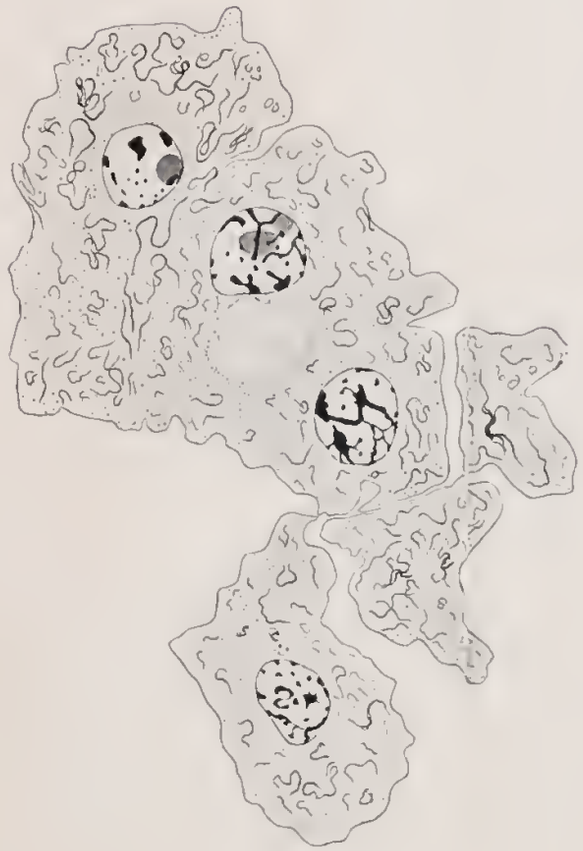
106.



111.



112.



113.

114.

Bonnet

Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig.

ARCHIV

FÜR

ZELLFORSCHUNG

HERAUSGEGEBEN

VON

DR. RICHARD GOLDSCHMIDT

PROFESSOR AN DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

SIEBENTER BAND

ERSTES HEFT

MIT 8 TEXTFIGUREN UND 11 TAFELN

AUSGEGEBEN AM 12. SEPTEMBER 1911

LEIPZIG

VERLAG VON WILHELM ENGELMANN

1911

Mitteilung an die Herren Mitarbeiter.

Sämtliche Beiträge für das Archiv für Zellforschung, deren Veröffentlichung in deutscher, französischer, englischer und italienischer Sprache erfolgen kann, bittet man an die Adresse des Herrn Professor Dr. **R. Goldschmidt,** Zoologisches Institut, **München,** Alte Akademie zu senden.

Die Herren Mitarbeiter erhalten an *Honorar ℳ 40.—* für den Druckbogen. Überschreitet eine Arbeit den Umfang von 4 Bogen, so wird für den Mehrumfang ein Honorar nicht gewährt. Dissertationen sind von der Honorierung ausgeschlossen.

Den Herren Mitarbeitern werden 40 Sonderdrucke von ihren Abhandlungen und Aufsätzen unberechnet geliefert. Weitere Exemplare stehen auf Wunsch gegen Erstattung der Herstellungskosten und unter der Voraussetzung, daß sie nicht für den Handel bestimmt sind, zur Verfügung.

Die *Manuskripte* sind *nur einseitig beschrieben* und ***druckfertig*** einzuliefern, **d. h. so, daß das Lesen der Korrektur in der Ausmerzung von Satzfehlern besteht, nicht in einer stilistischen oder sachlichen Umarbeitung.** Jedes Einschieben von Worten und ähnliche Änderungen sind mit entsprechenden Kosten verknüpft und sie müssen, wenn dadurch die normalen Korrekturkosten wesentlich erhöht werden, den betr. Herren Autoren zur Last gelegt werden.

Die *Zeichnungen* für Tafeln und Textabbildungen (diese mit genauer Angabe, wohin sie im Text gehören) werden auf *besondern* Blättern erbeten, auch wolle man beachten, daß für eine getreue und saubere Wiedergabe gute Vorlagen unerläßlich sind. Anweisungen für zweckmäßige Herstellung der Zeichnungen mit Proben der verschiedenen Reproduktionsverfahren stellt die Verlagsbuchhandlung den Herren Mitarbeitern auf Wunsch zur Verfügung. Bei photographisch aufgenommenen Abbildungen wird gebeten, die *Negative* bei Absendung des Manuskripts unmittelbar *an die Verlagsbuchhandlung* zu schicken.

Die Veröffentlichung der Arbeiten geschieht in der Reihenfolge, in der sie druckfertig in die Hände der Redaktion gelangen, falls nicht besondere Umstände ein späteres Erscheinen notwendig machen.

Die Korrekturbogen werden den Herren Verfassern von der Verlagsbuchhandlung regelmäßig zugeschickt, und es wird dringend um deren *sofortige Erledigung* und Rücksendung (ohne das Manuskript) an die Verlagsbuchhandlung gebeten. *Von etwaigen Änderungen des Aufenthalts oder vorübergehender Abwesenheit bittet man, die Redaktion oder die Verlagsbuchhandlung* ***sobald als möglich*** *in Kenntnis zu setzen. Bei säumiger Ausführung der Korrekturen hat der Verfasser es sich selbst zuzuschreiben, wenn seine Arbeit etwa für ein späteres Heft zurückgestellt werden muß.*

Redaktion und Verlagsbuchhandlung.

Inhalt des 1. Heftes.

Seite

Th. Bokorny, Verhalten von Infusorien und andern niederen Organismen sowie Pflanzen gegen stark verdünnte wässerige Auflösungen von Basen 1

Gaspare Alagna, Sulla presenza di formazioni mitocondriali negli elementi costitutivi delle Tonsille palatine normali, ipertrofiche e delle Vegetazioni adenoidi. (Con 6 Figure nel Testo) 27

H. E. Jordan, The Spermatogenesis of the Opossum (Didelphys virginiana) with special reference to the Accessory Chromosome and the Chondriosomes. (With 2 figures in the text and plates I—III) 41

W. Schleip, Das Verhalten des Chromatins bei Angiostomum (Rhabdonema) nigrovenosum. Ein Beitrag zur Kenntnis der Beziehungen zwischen Chromatin und Geschlechtsbestimmung. (Mit Tafel IV—IX) 87

M. Konopacki, Über den Einfluß hypertonischer Lösungen auf befruchtete Echinideneier (Strongylocentrotus lividus und Echinus microtuberculatus). (Mit Tafel IX—XI) 139

Verlag von WILHELM ENGELMANN in Leipzig

In Kürze erscheint:

Lehrbuch der Biologie

für Hochschulen

von

M. Nußbaum ◇ G. Karsten,

M. Weber

X und 529 Seiten

Geheftet etwa M. 15.—; gebunden etwa M. 16.50

:: VERLAG VON WILHELM ENGELMANN IN LEIPZIG ::

Archiv

für

Entwicklungsmechanik der Organismen

herausgegeben von

Dr. Dr. Wilhelm Roux
o. ö. Professor der Anatomie in Halle a. S.

Zweiunddreißigster Band, zweites Heft

Mit 42 Figuren im Text, 21 Tabellen und 6 Tafeln

gr. 8. ℳ 12.—

Inhalt: Sergius Morgulis, Studies of Inanition in its Bearing upon the Problem of Growth. I. (With 21 tables, 5 figures in the text and plates VIII—X.) — J. W. Jenkinson, On the development of isolated pieces of the gastrulae of the Sea-Urchin, Strongylocentrotus lividus. (With 27 figures in text.) — Charles R. Stockard, The Fate of Ovarian Tissues when planted on different Organs. (With 2 figures in text and plates XI—XIII.) — T. Brailsford Robertson, Further Remarks on the Chemical Mechanics of Cell-division. — F. Braem, Die Variation bei den Statoblasten von Pectinatella magnifica. (Mit 8 Figuren im Text.)

Gegenbaur's Morphologisches Jahrbuch

Eine Zeitschrift
für Anatomie und Entwicklungsgeschichte

herausgegeben von

Georg Ruge
Professor in Zürich

Dreiundvierzigster Band, viertes Heft

Mit 64 Figuren im Text und 6 Tafeln

gr. 8. ℳ 13.—

Inhalt: H. M. de Burlet, Über die äußeren Formverhältnisse der Leber der Faultiere. (Mit 32 Figuren im Text.) — A. Fleischmann, Die Kopfregion der Amnioten. Morphogenetische Studien. (8. Fortsetzung.) — Hans Walter Schmidt, Der Kehlhügel (Trachinx) der Amnioten. (Mit 19 Figuren im Text und Tafel XVIII—XX.) — Wilhelm von Möllendorff, Über die Entwicklung der Darmarterien und des Vornierenglomerulus bei Bombinator. Ein Beitrag zur Kenntnis des visceralen Blutgefäßsystems und seiner Genese bei den Wirbeltieren. (Mit 13 Figuren im Text und 3½ Mikrophotogrammen auf Tafel XXI—XXIII.)

Diesem Heft ist ein Prospekt der Firma **Friedr. Vieweg & Sohn** in **Braunschweig** über **Haecker, Allgemeine Vererbungslehre** beigelegt.

Druck von Breitkopf & Härtel in Leipzig

ARCHIV

FÜR

ZELLFORSCHUNG

HERAUSGEGEBEN

VON

DR. RICHARD GOLDSCHMIDT

PROFESSOR AN DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

SIEBENTER BAND

ZWEITES HEFT

MIT 1 TEXTFIGUR UND 16 TAFELN

AUSGEGEBEN AM 7. NOVEMBER 1911

LEIPZIG

VERLAG VON WILHELM ENGELMANN

1911

Mitteilung an die Herren Mitarbeiter.

Sämtliche Beiträge für das Archiv für Zellforschung, deren Veröffentlichung in deutscher, französischer, englischer und italienischer Sprache erfolgen kann, bittet man an die Adresse des Herrn Professor Dr. **R. Goldschmidt,** Zoologisches Institut, **München,** Alte Akademie zu senden.

Die Herren Mitarbeiter erhalten an *Honorar ℳ 40.—* für den Druckbogen. Überschreitet eine Arbeit den Umfang von 4 Bogen, so wird für den Mehrumfang ein Honorar nicht gewährt. Dissertationen sind von der Honorierung ausgeschlossen.

Den Herren Mitarbeitern werden 40 Sonderdrucke von ihren Abhandlungen und Aufsätzen unberechnet geliefert. Weitere Exemplare stehen auf Wunsch gegen Erstattung der Herstellungskosten und unter der Voraussetzung, daß sie nicht für den Handel bestimmt sind, zur Verfügung.

Die *Manuskripte* sind *nur einseitig beschrieben* und ***druckfertig*** einzuliefern, **d. h. so, daß das Lesen der Korrektur in der Ausmerzung von Satzfehlern besteht, nicht in einer stilistischen oder sachlichen Umarbeitung.** Jedes Einschieben von Worten und ähnliche Änderungen sind mit entsprechenden Kosten verknüpft und sie müssen, wenn dadurch die normalen Korrekturkosten wesentlich erhöht werden, den betr. Herren Autoren zur Last gelegt werden.

Die *Zeichnungen* für Tafeln und Textabbildungen (diese mit genauer Angabe, wohin sie im Text gehören) werden auf *besondern* Blättern erbeten, auch wolle man beachten, daß für eine getreue und saubere Wiedergabe gute Vorlagen unerläßlich sind. Anweisungen für zweckmäßige Herstellung der Zeichnungen mit Proben der verschiedenen Reproduktionsverfahren stellt die Verlagsbuchhandlung den Herren Mitarbeitern auf Wunsch zur Verfügung. Bei photographisch aufgenommenen Abbildungen wird gebeten, die *Negative* bei Absendung des Manuskripts unmittelbar *an die Verlagsbuchhandlung* zu schicken.

Die Veröffentlichung der Arbeiten geschieht in der Reihenfolge, in der sie druckfertig in die Hände der Redaktion gelangen, falls nicht besondere Umstände ein späteres Erscheinen notwendig machen.

Die Korrekturbogen werden den Herren Verfassern von der Verlagsbuchhandlung regelmäßig zugeschickt, und es wird dringend um deren *sofortige Erledigung* und Rücksendung (ohne das Manuskript) an die Verlagsbuchhandlung gebeten. *Von etwaigen Änderungen des Aufenthalts oder vorübergehender Abwesenheit bittet man, die Redaktion oder die Verlagsbuchhandlung* ***sobald als möglich*** *in Kenntnis zu setzen. Bei säumiger Ausführung der Korrekturen hat der Verfasser es sich selbst zuzuschreiben, wenn seine Arbeit etwa für ein späteres Heft zurückgestellt werden muß.*

Redaktion und Verlagsbuchhandlung.

Inhalt des 2. Heftes.

Seite

Andreas Berezowski, Studien über die Zellgröße. Zweite Mitteilung. Über den Einfluß der Kastration auf die Zellgröße 185

Katharine Foot and E. C. Strobell, Amitosis in the Ovary of Protenor belfragei and a Study of the Chromatin Nucleolus. (With plates XII—XX) 190

Jean Bonnet, Sur e groupement par paires des chromosomes dans les noyaux diploïdes. (Avec planches XXI—XXII et une figure dans le texte) 231

J. O. Wakelin Barratt and G. Arnold, Cell Changes in the Testis due to X Rays. (With plates XXIII—XXIV 242

Cesare Artom, Analisi comparativa della sostanza cromatica nelle mitosi di maturazione e nelle prime mitosi di segmentazione dell' novo dell' Artemia sessuata di Cagliari (univalens) e dell' novo dell' Artemia partenogenetica di Capodistria (bivalens). Con tavola XXV—XXVII 277

Referate: Bialkowska, W. und L. Kulikowska, Über den Golgi-Kopsch-schen Apparat der Nervenzellen bei den Hirudineen und *Lumbricus*. *(Erhard)*. 296

Diltevsen, Chr., Über Kernknospung im verhornten Plattenepithel beim Meerschweinchen. *(Erhard)* 296

Mollier, S., Die Blutbildung in der embryonalen Leber des Menschen und der Säugetiere. *(Erhard)* 296

Wassermann, Fr., Über den makro- und mikrochemischen Eisennach-weis im Dotter des Hühnereies. *(Erhard)*. 297

Maximow, A., Untersuchungen über Blut und Bindegewebe. III. Die embryonale Histogenese des Knochenmarks der Säugetiere. *(Erhard)* 297

Boveri, Th., Die Potenzen der *Ascaris*-Blastomeren bei abgeänderter Furchung. *(Koehler)* 297

Němec, B., Das Problem der Befruchtungsvorgänge und andere cytolo-gische Fragen. *(E. Godlewski jun.)* 300

:: VERLAG VON WILHELM ENGELMANN IN LEIPZIG ::

Die geologischen Grundlagen der Abstammungslehre

von

Dr. Gustav Steinmann

Mit 172 Figuren im Text

8. Geheftet ℳ 7.—; gebunden ℳ 8.—

Vorträge und Aufsätze

über

Entwicklungsmechanik der Organismen

unter Mitwirkung von zahlreichen Gelehrten

herausgegeben von

Prof. Wilhelm Roux.

Heft 1: **Die Entwicklungsmechanik, ein neuer Zweig der biologischen Wissenschaft.** Eine Ergänzung zu den Lehrbüchern der Entwicklungsgeschichte und Physiologie der Tiere. Nach einem Vortrag, gehalten in der ersten allgemeinen Sitzung der Versammlung deutscher Naturforscher und Ärzte zu Breslau am 19. September 1904 von Wilhelm Roux. Mit zwei Tafeln und einer Textfigur. XIV, 283 S. gr. 8 *M* 5.—

Heft 2: **Über den chemischen Charakter des Befruchtungsvorganges** und seine Bedeutung für die Theorie der Lebenserscheinungen von Jacques Loeb. 32 S. gr. 8. *M* —.80

Heft 3: **Anwendung elementarer Mathematik auf biologische Probleme.** Nach Vorlesungen, gehalten an der Wiener Universität im Sommersemester 1907 von Hans Przibram. Mit 6 Figuren im Text. VI, 84 S. gr. 8. *M* 2.40

Heft 4: **Über umkehrbare Entwicklungsprozesse und ihre Bedeutung für eine Theorie der Vererbung** von Eugen Schultz. 48 S. gr. 8. *M* 1.40

Heft 5: **Über die zeitlichen Eigenschaften der Entwicklungsvorgänge** von Wolfgang Ostwald. Mit 43 Figuren im Text und auf 11 Tafeln. VI, 71 S. gr. 8. *M* 2.80

Heft 6: **Über chemische Beeinflussung der Organismen durch einander.** Vortrag, gehalten am 9. Dezember 1908 in der Naturforschenden Gesellschaft zu Halle a. S. von Ernst Küster. 25 S. gr. 8. *M* 1.—

Heft 7: **Der Restitutionsreiz.** Rede zur Eröffnung der Sektion für experimentelle Zoologie des 7. internationalen Zoologenkongresses zu Boston von Hans Driesch. 24 S. gr. 8. *M* 1.—

Heft 8: **Einige Gedanken über das Wesen und die Genese der Geschwülste.** Vortrag, gehalten in der Gesellschaft zur Bekämpfung der Krebskrankheit, im Januar 1909, St. Petersburg, von Priv.-Doz. Gustav Schläter. 44 S. gr. 8. *M* 1.20

Heft 9: **Das Vererbungsproblem im Lichte der Entwicklungsmechanik betrachtet** von Dr. Emil Godlewski jun. Mit 67 Figuren. 301 S. gr. 8. *M* 7.—

Heft 10: **Über die gestaltliche Anpassung der Blutgefäße** unter Berücksichtigung der funktionellen Transplantation von Albert Oppel. Mit einer Originalbeigabe von Wilhelm Roux, enthaltend seine Theorie der Gestaltung der Blutgefäße, einschließlich des Kollateralkreislaufs. IX, 182 S. gr. 8. *M* 4.40

Heft 11: **Die physiologische Isolation von Teilen des Organismus** von Charles Manning Child. VII, 157 S. gr. 8. *M* 4.—

Heft 12: **Autokatalytical substances the determinants for the inheritable characters.** A biomechanical theory of inheritance and evolution by Dr. Arend L. Hagedoorn. IV, 35 S. gr. 8. *M* 1.20

Heft 13: **Über Zellverschmelzung mit qualitativ abnormer Chromosomenverteilung als Ursache der Geschwulstbildung** von Prof. Dr. med. et phil. Otto Aichel. Mit einem Vorwort von Prof. W. Roux. Mit 25 Abbildungen im Text. VII, 115 S. gr. 8. *M* 4.40

Diesem Heft ist ein Prospekt der **Franckh'schen Verlagsbuchhandlung** in **Stuttgart** über **Sigmund, „Eine physiologische Histologie des Menschen- und Säugetier-Körpers in Wort, Bild und Präparat"** beigelegt.

Druck von Breitkopf & Härtel in Leipzig.

ARCHIV

FÜR

ZELLFORSCHUNG

HERAUSGEGEBEN

VON

DR. RICHARD GOLDSCHMIDT

PROFESSOR AN DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

SIEBENTER BAND

DRITTES HEFT

MIT 17 TEXTFIGUREN UND 6 TAFELN

AUSGEGEBEN AM 28. DEZEMBER 1911

LEIPZIG

VERLAG VON WILHELM ENGELMANN

1911

Mitteilung an die Herren Mitarbeiter.

Sämtliche Beiträge für das Archiv für Zellforschung, deren Veröffentlichung in deutscher, französischer, englischer und italienischer Sprache erfolgen kann, bittet man an die Adresse des Herrn Professor Dr. **R. Goldschmidt,** Zoologisches Institut, **München,** Alte Akademie zu senden.

Die Herren Mitarbeiter erhalten an *Honorar ℳ 40.—* für den Druckbogen. Überschreitet eine Arbeit den Umfang von 4 Bogen, so wird für den Mehrumfang ein Honorar nicht gewährt. Dissertationen sind von der Honorierung ausgeschlossen.

Den Herren Mitarbeitern werden 40 Sonderdrucke von ihren Abhandlungen und Aufsätzen unberechnet geliefert. Weitere Exemplare stehen auf Wunsch gegen Erstattung der Herstellungskosten und unter der Voraussetzung, daß sie nicht für den Handel bestimmt sind, zur Verfügung.

Die *Manuskripte* sind *nur einseitig beschrieben* und ***druckfertig*** einzuliefern, **d. h. so, daß das Lesen der Korrektur in der Ausmerzung von Satzfehlern besteht, nicht in einer stilistischen oder sachlichen Umarbeitung.** Jedes Einschieben von Worten und ähnliche Änderungen sind mit entsprechenden Kosten verknüpft und sie müssen, wenn dadurch die normalen Korrekturkosten wesentlich erhöht werden, den betr. Herren Autoren zur Last gelegt werden.

Die *Zeichnungen* für Tafeln und Textabbildungen (diese mit genauer Angabe, wohin sie im Text gehören) werden auf *besondern* Blättern erbeten, auch wolle man beachten, daß für eine getreue und saubere Wiedergabe gute Vorlagen unerläßlich sind. Anweisungen für zweckmäßige Herstellung der Zeichnungen mit Proben der verschiedenen Reproduktionsverfahren stellt die Verlagsbuchhandlung den Herren Mitarbeitern auf Wunsch zur Verfügung. Bei photographisch aufgenommenen Abbildungen wird gebeten, die *Negative* bei Absendung des Manuskripts unmittelbar *an die Verlagsbuchhandlung* zu schicken.

Die Veröffentlichung der Arbeiten geschieht in der Reihenfolge, in der sie druckfertig in die Hände der Redaktion gelangen, falls nicht besondere Umstände ein späteres Erscheinen notwendig machen.

Die Korrekturbogen werden den Herren Verfassern von der Verlagsbuchhandlung regelmäßig zugeschickt, und es wird dringend um deren *sofortige Erledigung* und Rücksendung (ohne das Manuskript) an die Verlagsbuchhandlung gebeten. *Von etwaigen Änderungen des Aufenthalts oder vorübergehender Abwesenheit bittet man, die Redaktion oder die Verlagsbuchhandlung* ***sobald als möglich*** *in Kenntnis zu setzen. Bei säumiger Ausführung der Korrekturen hat der Verfasser es sich selbst zuzuschreiben, wenn seine Arbeit etwa für ein späteres Heft zurückgestellt werden muß.*

Redaktion und Verlagsbuchhandlung.

Inhalt des 3. Heftes.

Seite

Charles Lincoln Edwards, The Sex-Chromosomes in Ascaris felis. (With plate XXVIII) 309

Iw. Buresch, Untersuchungen über die Zwitterdrüse der Pulmonaten. I. Die Differenzierung der Keimzellen bei Helix arbustorum. (Mit 5 Figuren im Text und Tafel XXIX—XXX) 314

N. K. Koltzoff, Studien über die Gestalt der Zelle. III. Untersuchungen über die Kontraktilität des Vorticellinenstiels. (Mit 12 Figuren im Text) 344

M. v. Derschau, Über Kernbrücken und Kernsubstanz in pflanzlichen Zellen. (Mit Tafel XXXI—XXXIII) 424

Referate: Schaxel, Jul., Die Eibildung der Meduse *Pelagia noctiluca* Pér. et Less. *(P. Buchner)* 447

Schaxel, Julius, Das Zusammenwirken der Zellbestandteile bei der Eireifung, Furchung und ersten Organbildung der Echinodermen. *(P. Buchner)* 448

Retzius, G., Über den Bau des Eies der Echinodermen im unbefruchteten und im befruchteten Zustand. *(P. Buchner)* 449

Müller, Rob., Über die Eireifung bei den Alcyonaceen. *(P. Buchner)* 450

Senna, Ang., Ricerche sull' oogenesi di *Tomopteris elegans* Chun. *(P. Buchner)* 450

Morrill, Charles V., The Chromosomes in the Oögenesis, Fertilization and Cleavage of Coreid Hemiptera. *(P. Buchner)* 451

Elpatiewsky, W., Die Entwicklungsgeschichte der Genitalprodukte bei *Sagitta*. 1. Die Entwicklung der Eier. *(P. Buchner)* 451

Meves, Fr., Über die Beteiligung der Plastochondrien an der Befruchtung des Eies von *Ascaris megalocephala*. *(P. Buchner)* 452

Jörgensen, M., Zur Entwicklungsgeschichte des Eierstockeies von *Proteus anguineus* (Grottenolm) (Die Wachstumsperiode). *(P. Buchner)* 453

Athias, M., Les phénomènes de division d'ovule dans les follicules de de Graaf en voie d'atrésie chez le Lérot (*Eliomys quercinus* L.). *(P. Buchner)* 455

Sobotta, J. und Burckhard, G., Reifung und Befruchtung des Eies der weißen Ratte. *(P. Buchner)* 456

Montgomery, Thos. H. jr., Are Particular Chromosomes Sex Determinants? *(P. Buchner)* 457

Stevens, N. M., Further Studies on Heterochromosomes in Mosquitos. *(P. Buchner)* 458

Dehorne, Arm., Le mécanisme de la réduction numérique dans la spermatogénèse de *Ophryotrocha puerilis* Clprd.-Mecz. *(P. Buchner)*. . . 458

Blackmann, M. W., Spermatogenesis of the Myriopods. IV. An Analysis of the Chromosome Group of *Scolopendra heros*. *(P. Buchner)* 459

Sobotta, S., Über das Verhalten der Spermatozoen im Uterus der Säugetiere. Nach Befunden bei Nagetieren (Maus, Ratte u. a.) *(P. Buchner)* 460

Artom, Cesare, La Sistematica del genere *Artemia* in relazione col numero dei cromosomi delle cellule sessuali e in relazione col numero e colla grandezza delle cellule somatiche. *(P. Buchner)* 460

Schneider, K. C., Histologische Mitteilungen. III. Chromosomengenese. *(P. Buchner)* 460

Popoff, M., Ein Beitrag zur Chromidialfrage. Nach Untersuchungen an Musciden. *(P. Buchner)* 461

Erhard, H., Diplosomen und Mitosen im cilientragenden Ependym eines Haifischembryo. *(P. Buchner)* 461

Schultze, Osk, Über die Genese der Granula in den Drüsenzellen. *(P. Buchner)* 462

Firket, J., Recherches sur la genèse des fibrilles épidermiques chez le poulet. *(P. Buchner)* 462

Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig

Soeben erschien:

Einführung in die Tropenwelt

Erlebnisse, Beobachtungen und Betrachtungen eines Naturforschers auf Ceylon, zugleich ein Handbuch für den Reisenden

von

Dr. Konrad Guenther

Privatdozent an der Universität Freiburg i. Br.

25 Bogen 8° mit 107 Abbildungen nach photographischen Original-Aufnahmen des Verfassers und einer Karte von Ceylon
In elegantes engl. Leinen gebunden **M. 4.80**

Inhalt: 1. Kapitel: Auf der See. — 2. Kapitel: Europäische und tropische Landschaft, Temperatur, Gesundheitsregeln, sogenannte Gefahren. — 3. Kapitel: Das Leben auf Ceylon. Einkäufe und Ausrüstung. — 4. Kapitel: Vogelleben auf Peradeniya. — 5. Kapitel: Reptilien, Insekten und andere Tiere. — 6. Kapitel: Die großen Tiere und die Jagd auf Ceylon. — 7. Kapitel: Vom tropischen Urwald. — 8. Kapitel: Im Hochland. — 9. Kapitel: Am Mangrovesee. — 10. Kapitel: Am Indischen Ozean. — 11. Kapitel: Kulturpflanzungen. — 12. Kapitel: Das Volk. — 13. Kapitel: Versunkene Städte. — 14. Kapitel: Der Buddhismus. — Register.

Druck von Breitkopf & Härtel in Leipzig.

ARCHIV

FÜR

ZELLFORSCHUNG

HERAUSGEGEBEN

VON

DR. RICHARD GOLDSCHMIDT

PROFESSOR AN DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

SIEBENTER BAND

VIERTES HEFT

MIT 26 TEXTFIGUREN UND 12 TAFELN

AUSGEGEBEN AM 10. APRIL 1912

LEIPZIG

VERLAG VON WILHELM ENGELMANN

1912

Mitteilung an die Herren Mitarbeiter.

Sämtliche Beiträge für das Archiv für Zellforschung, deren Veröffentlichung in deutscher, französischer, englischer und italienischer Sprache erfolgen kann, bittet man an die Adresse des Herrn Professor Dr. **R. Goldschmidt,** Zoologisches Institut, **München,** Alte Akademie zu senden.

Die Herren Mitarbeiter erhalten an *Honorar ℳ 40.—* für den Druckbogen. Überschreitet eine Arbeit den Umfang von 4 Bogen, so wird für den Mehrumfang ein Honorar nicht gewährt. Dissertationen sind von der Honorierung ausgeschlossen.

Den Herren Mitarbeitern werden 40 Sonderdrucke von ihren Abhandlungen und Aufsätzen unberechnet geliefert. Weitere Exemplare stehen auf Wunsch gegen Erstattung der Herstellungskosten und unter der Voraussetzung, daß sie nicht für den Handel bestimmt sind, zur Verfügung.

Die *Manuskripte* sind *nur einseitig beschrieben* und ***druckfertig*** einzuliefern, **d. h. so, daß das Lesen der Korrektur in der Ausmerzung von Satzfehlern besteht, nicht in einer stilistischen oder sachlichen Umarbeitung.** Jedes Einschieben von Worten und ähnliche Änderungen sind mit entsprechenden Kosten verknüpft und sie müssen, wenn dadurch die normalen Korrekturkosten wesentlich erhöht werden, den betr. Herren Autoren zur Last gelegt werden.

Die *Zeichnungen* für Tafeln und Textabbildungen (diese mit genauer Angabe, wohin sie im Text gehören) werden auf *besondern* Blättern erbeten, auch wolle man beachten, daß für eine getreue und saubere Wiedergabe gute Vorlagen unerläßlich sind. Anweisungen für zweckmäßige Herstellung der Zeichnungen mit Proben der verschiedenen Reproduktionsverfahren stellt die Verlagsbuchhandlung den Herren Mitarbeitern auf Wunsch zur Verfügung. Bei photographisch aufgenommenen Abbildungen wird gebeten, die *Negative* bei Absendung des Manuskripts unmittelbar *an die Verlagsbuchhandlung* zu schicken.

Die Veröffentlichung der Arbeiten geschieht in der Reihenfolge, in der sie druckfertig in die Hände der Redaktion gelangen, falls nicht besondere Umstände ein späteres Erscheinen notwendig machen.

Die Korrekturbogen werden den Herren Verfassern von der Verlagsbuchhandlung regelmäßig zugeschickt, und es wird dringend um deren *sofortige Erledigung* und Rücksendung (ohne das Manuskript) an die Verlagsbuchhandlung gebeten. *Von etwaigen Änderungen des Aufenthalts oder vorübergehender Abwesenheit bittet man, die Redaktion oder die Verlagsbuchhandlung* ***sobald als möglich*** *in Kenntnis zu setzen. Bei säumiger Ausführung der Korrekturen hat der Verfasser es sich selbst zuzuschreiben, wenn seine Arbeit etwa für ein späteres Heft zurückgestellt werden muß.*

Redaktion und Verlagsbuchhandlung.

Inhalt des 4. Heftes.

Seite

G. v. Kemnitz, Die Morphologie des Stoffwechsels bei Ascaris lumbricoides. Ein Beitrag zur physiologisch-chemischen Morphologie der Zelle. Mit 9 Figuren im Text und Tafel XXXIV—XXXVIII 463

Jean Bonnet, Recherches sur l'évolution des cellules-nourricières du pollen chez les Angiospermes. Avec 17 figures dans le texte et planches XXXIX—XLV 604

:: VERLAG VON WILHELM ENGELMANN IN LEIPZIG ::

Über die Zelle

Nachgelassene Schrift

von

Alfred Schaper

weiland a. o. Professor der Anatomie und Entwicklungsgeschichte an der Universität zu Breslau

Nach dem Tode des Verfassers herausgegeben

von

Wilhelm Roux

Mit 3 Textfiguren

III u. 45 S. Gr. 8. ℳ —.60

Von dem verdienten, so früh aus dem Leben geschiedenen Forscher lagen bei seinem Tode nur einige Abschnitte der Zellenlehre, die er erst als ›Lehrbuch‹ herauszugeben beabsichtigt hatte, vor. Seinem Wunsche entsprechend, hat der Herausgeber, Herr Geheimrat Prof. Dr. Wilhelm Roux in Halle a. S., für die Veröffentlichung dieser, über die geschichtliche Entwicklung des Zellbegriffes, die organischen Individualitätsstufen und über den Bau und die elementarsten Lebenserscheinungen der Zelle, speziell des Protoplasma, handelnden Kapitel gesorgt.

Selectionsprinzip
und Probleme der Artbildung
Ein Handbuch des Darwinismus

von

Dr. Ludwig Plate

Professor der Zoologie an der Landw. Hochschule und an der Universität Berlin

Dritte, sehr vermehrte Auflage

Mit 60 Figuren im Text

VIII u. 493 Seiten. Gr. 8. Geh. ℳ 12.—, in Leinen geb. ℳ 13.—

:: VERLAG VON WILHELM ENGELMANN IN LEIPZIG ::

Vorträge und Aufsätze

über

Entwicklungsmechanik der Organismen

unter Mitwirkung von zahlreichen Gelehrten

herausgegeben von

Prof. Wilhelm Roux.

Bisher liegen vor:

Heft 1: **Die Entwicklungsmechanik, ein neuer Zweig der biologischen Wissenschaft.** Eine Ergänzung zu den Lehrbüchern der Entwicklungsgeschichte und Physiologie der Tiere. Nach einem Vortrag, gehalten in der ersten allgemeinen Sitzung der Versammlung deutscher Naturforscher und Ärzte zu Breslau am 19. September 1904 von Wilhelm Roux. Mit zwei Tafeln und einer Textfigur. XIV, 283 S. gr. 8. ℳ 5.—

Heft 2: **Über den chemischen Charakter des Befruchtungsvorganges** und seine Bedeutung für die Theorie der Lebenserscheinungen von Jacques Loeb. 32 S. gr. 8. ℳ —.80

Heft 3: **Anwendung elementarer Mathematik auf biologische Probleme.** Nach Vorlesungen, gehalten an der Wiener Universität im Sommersemester 1907 von Hans Przibram. Mit 6 Figuren im Text. VI, 84 S. gr. 8. ℳ 2.40

Heft 4: **Über umkehrbare Entwicklungsprozesse und ihre Bedeutung für eine Theorie der Vererbung** von Eugen Schultz. 48 S. gr. 8. ℳ 1.40

Heft 5: **Über die zeitlichen Eigenschaften der Entwicklungsvorgänge** von Wolfgang Ostwald. Mit 43 Figuren im Text und auf 11 Tafeln. VI, 71 S. gr. 8. ℳ 2.80

Heft 6: **Über chemische Beeinflussung der Organismen durch einander.** Vortrag, gehalten am 9. Dezember 1908 in der Naturforschenden Gesellschaft zu Halle a. S. von Ernst Küster. 25 S. gr. 8. ℳ 1.—

Heft 7: **Der Restitutionsreiz.** Rede zur Eröffnung der Sektion für experimentelle Zoologie des 7. internationalen Zoologenkongresses zu Boston von Hans Driesch. 24 S. gr. 8. ℳ 1.—

Heft 8: **Einige Gedanken über das Wesen und die Genese der Geschwülste.** Vortrag, gehalten in der Gesellschaft zur Bekämpfung der Krebskrankheit, im Januar 1909, St. Petersburg, von Priv.-Doz. Gustav Schlater. 44 S. gr. 8. ℳ 1.20

Heft 9: **Das Vererbungsproblem im Lichte der Entwicklungsmechanik betrachtet** von Dr. Emil Godlewski jun. Mit 67 Figuren. 301 S. gr. 8. ℳ 7.—

Heft 10: **Über die gestaltliche Anpassung der Blutgefäße** unter Berücksichtigung der funktionellen Transplantation von Albert Oppel. Mit einer Originalbeigabe von Wilhelm Roux, enthaltend seine Theorie der Gestaltung der Blutgefäße, einschließlich des Kollateralkreislaufs. IX, 182 S. gr. 8. ℳ 4.40

Heft 11: **Die physiologische Isolation von Teilen des Organismus** von Charles Manning Child. VII, 157 S. gr. 8. ℳ 4.—

Heft 12: **Autokatalytical substances the determinants for the inheritable characters.** A biomechanical theory of inheritance and evolution by Dr. Arend L. Hagedoorn. IV, 35 S. gr. 8. ℳ 1.20

Heft 13: **Über Zellverschmelzung mit qualitativ abnormer Chromosomenverteilung als Ursache der Geschwulstbildung** von Prof. Dr. med. et phil. Otto Aichel. Mit einem Vorwort von Prof. W. Roux. Mit 25 Abbildungen im Text. VII, 115 S. gr. 8. ℳ 4.40

Diesem Heft ist der Verlagsbericht 1911 von Wilhelm Engelmann in Leipzig beigelegt.

Druck von Breitkopf & Härtel in Leipzig.

THE Heckman Bindery INC BOUND TO PLEASE
JAN. 65
N MANCHESTER. INDIANA

1912 59.06(43)Ee

AMNH LIBRARY
100229677